

ÉTUDE COMPARÉE DES ÉLECTROPHORÈSES SÉRIQUES ET URINAIRES DANS LES NÉPHROPATHIES

THÈSE

PRÉSENTÉE

à la FACULTE de MÉDECINE et de PHARMACIE de LYON

et soutenue publiquement le 22 Décembre 1955

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Pierre RUITTON

Externe en Médecine

Interne en Pharmacie

Diplômé de Sérologie, Bactériologie,

Hématologie, Biochimie Médicale

Certifié de Chimie Biologique (Faculté des Sciences)

Né le 12 Juin 1925, à LYON (Rhône)



LYON

BOSC Frères

Imprimeurs-Editeurs

42, quai Gailleton, 42

1955

ÉTUDE COMPARÉE
DES ÉLECTROPHORÈSES SÉRIQUES ET URINAIRES
DANS LES NÉPHROPATHIES

ÉTUDE COMPARÉE
DES ÉLECTROPHORÈSES SÉRIQUES
ET URINAIRES
DANS LES NÉPHROPATHIES

THÈSE

PRÉSENTÉE

à la FACULTE de MÉDECINE et de PHARMACIE de LYON

et soutenue publiquement le 22 Décembre 1955

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Pierre RUITTON

Externe en Médecine

Interne en Pharmacie

Diplômé de Sérologie, Bactériologie,

Hématologie, Biochimie Médicale

Certifié de Chimie Biologique (Faculté des Sciences)

Né le 12 Juin 1925, à LYON (Rhône)



LYON

BOSC Frères

Imprimeurs-Éditeurs

42, quai Gailleton, 42

1955

PERSONNEL DE LA FACULTE

Doyen M. HERMANN. | Doyen honoraire M. J. LEPINE.
Assesseur M. J. GATE.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. NICOLAS, COLLET, CLUZET, BERARD, GUIART, PIERY, CADE, PATEL,
LEPINE, SAVY, TRILLAT, LERICHE, MOURIQUAND, MAZEL, LEULIER, GARIN.

PROFESSEURS

Clinique médicale A.	MM. FROMENT.
Clinique médicale B.	P. RAVAUULT.
Clinique chirurgicale A.	SANTY.
Clinique chirurgicale B.	WERTHEIMER.
Clinique ophtalmologique.	BONNET.
Clinique urologique.	CIBERT.
Clinique et prophylaxie de la tuberculose.	DUFOUT.
Clinique dermatologique et syphiligraphique.	GATE.
Clinique neuro-psychiatrique et hygiène mentale.	DECHAUME.
Clinique des maladies infectieuses et bactériologie.	SEDALLIAN.
Clinique de chirurgie orthopédique et chirurgie infantile.	GUILLEMINET.
Clinique gynécologique.	POLLOSSON.
Clinique obstétricale.	PIGEAUD.
Clinique stomatologique.	DUCLOS.
Clinique médicale infantile et hygiène du premier âge.	BERNHEIM.
Clinique oto-rhino-laryngologique.	MAYOUX.
Physiologie.	HERMANN.
Anatomie pathologique.	J.-F. MARTIN.
Physique biologique, radiologie et physiothérapie.	PONTHUS.
	(détaché à Beyrouth)
Thérapeutique chirurgicale et chirurgie opératoire.	ROCHET.
Chimie organique et toxicologie.	CHAMBON.
Pathologie générale et expérimentale.	JOSSERAND.
Hydrologie thérapeutique, climatologie et écologie sociale.	DELORE.
Anatomie.	GABRIELLE.
Pathologie interne.	CROIZAT.
Chimie biologique et médicale.	ENSELME.
Pathologie chirurgicale.	MALLET-GUY.
Histologie.	NOEL.
Pharmacie galénique et matière médicale.	REVOL.
Médecine du travail.	BOURRET.
Thérapeutique.	LEVRAT.
Hygiène et action sanitaire et sociale.	SOHIER.
Biologie médicale et pharmacodynamie.	JOURDAN.
Botanique et cryptogamie.	NETIEN.
Propédeutique chirurgicale.	BERTRAND.
Chimie analytique pharmaceutique.	BADINAND.
Pharmacie et pharmacologie.	DREVON.
Médecine légale et déontologie.	ROCHE.
Parasitologie et pathologie exotique.	X.



PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Obstétrique. M. BANSILLON. | Physique biologique M. BERGER.

MAITRES DE CONFERENCES - AGREGES

Parasitologie. MM. ROMAN.	Pharmacie galénique	
Parasitologie. COUDERT.	et matière médicale. MM.	DORCHE.
Physiologie. CIER J.-F.	Anatomie.	DUROUX.
Physiologie. CHATONNET	Pharmacie et Pharmacologie	CIER André.
Chimie biologique	Hygiène.	BENAZET.
et médicale CREYSEL R.	Anatomie pathologique	FEROLDI.
Bactériologie. BERTOYE A.	Chimie organique	
	et Toxicologie	PERROT L.

AGREGES EN EXERCICE

Pathologie médicale . MM.	GALY.	Ophtalmologie. MM.	PAUFIQUE.
Pathologie médicale . .	GONIN.	Obstétrique.	MAGNI N.
Pathologie médicale . .	GUINET.	Obstétrique.	MATHIEU J.
Pathologie médicale . .	PONT	Obstétrique.	BURTHIAULT.
Pathologie médicale . .	VIGNON.	Oto-rhino-Laryngologie.	GIGNOUX.
Pathologie médicale . .	REVOL.	Dermato-Vénérologie	THIERS.
Pathologie médicale . .	TRAERER.	Urologie	PERRIN.
Pathologie chirurgicale	MANSUY.	Neuro-Chirurgie.	LECUIRE.
Pathologie chirurgicale	DARGENT.	Orthopédie	MARION Joseph.
Pathologie chirurgicale	GUILLET.	Stomatologie	FREIDEL.
Pathologie chirurgicale	MARION P.	Electro-Radiologie	PAPILLON.
Pathologie chirurgicale	MICHAUD.	Pédiatrie et Puériculture.	FRANÇOIS.
Pathologie chirurgicale	JAUBERT	Thérapeutique	BRETTE.
	de BEAUJEU.	Maladies infectieuses.	MONNET.
Pathologie chirurgicale	SAUTOT.		

CHARGE DES FONCTIONS D'AGREGE

Médecine légale. M. COLIN.

CHARGES DES FONCTIONS DE MAITRE DE CONFERENCES - AGREGE

Histologie. M. DUMONT Louis. | Physique biologique. M. MORET.

LES EXAMINATEURS DE LA THESE :

**Président : M. P.-RAVAULT ; Assesseurs : MM. CHAMBON,
BERNHEIM et TRAERER.**

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner ni approbation, ni improbation.

A MA GRAND' MERE

A MES PARENTS

En témoignage d'affection et de reconnaissance.

A MA FEMME

Qui a accepté sans se plaindre les nombreuses et souvent pénibles contraintes imposées par ce travail ; je la remercie de son aide matérielle et du soutien moral qu'elle m'a apporté sans jamais faiblir.

A MA SŒUR ET A MON BEAU-FRERE

A MADemoiselle EMMA BARTHELEMY

Qui fut une seconde mère pour moi.

A CARLA ET SANDRO GADDI ET A LEURS PARENTS AVEC UNE PENSÉE TOUTE PARTICULIÈRE A MADAME VAILATI

En remerciements de leur accueil toujours si parfait et si charmant.

A TOUS LES MIENS

A NOTRE PRESIDENT DE THESE
MONSIEUR LE PROFESSEUR PAUPERT-RAVAULT

Nous le remercions de l'honneur qu'il nous fait en présidant notre thèse. Nous regrettons de n'avoir fait aucun semestre dans son service pendant notre médecine et de n'avoir pu apprécier son prestigieux enseignement que tardivement, en tant qu'interne en Pharmacie.

Il nous a, dès le début, manifesté la plus grande bienveillance ; elle ne s'est jamais démentie au cours des deux ans passés dans son service et s'est témoignée encore tout dernièrement. Nous n'oublierons jamais son bon sens clinique et sa grande bonté. Qu'il veuille bien accepter toute notre reconnaissance et notre respectueuse affection.

A NOS JUGES

A MONSIEUR LE PROFESSEUR CHAMBON

Pendant cinq semestres d'interne en Pharmacie passés dans son service, nous avons pu apprécier la précision et la logique de son esprit et admirer l'étendue de ses connaissances dans les domaines les plus variés. Nous sommes très heureux d'avoir bénéficié de son enseignement et de le compter parmi nos juges ; nous lui exprimons toute notre gratitude et notre admiration.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BERNHEIM

Nous regrettons de n'avoir pu profiter de son enseignement et nous le remercions tout particulièrement d'avoir accepté de siéger parmi nos examinateurs. Nous lui savons gré de l'aide qu'il nous a accordée en nous permettant de prendre des observations dans son service. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre profond respect.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ TRAEGER

Que nous connaissons depuis le début de nos études médicales, lorsqu'il dirigeait à l'Hôtel-Dieu, dans les sombres jours de 1944, avec un petit noyau d'« anciens », la cohorte turbulente des « faisant fonction d'externe ». Depuis, nous avons toujours pu compter sur sa bienveillante camaraderie. Il est à l'origine de ce travail sur un sujet auquel il s'intéresse beaucoup et nous lui adressons toute notre reconnaissance pour les conseils éclairés qu'il nous a prodigués. Qu'il sache qu'il n'est pas seulement pour nous un juge, mais également un exemple de dévouement et de travail.

A NOS MAITRES DANS LES HOPITAUX

Externat provisoire :

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ POLLOSSON
MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ PEYCELON

Externat en Médecine :

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ LABRY
MONSIEUR LE PROFESSEUR TAVERNIER (*in memoriam*)
MONSIEUR LE PROFESSEUR CIBERT
MONSIEUR LE PROFESSEUR BERTRAND
MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ THIERS
MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ M. GIRARD

Internat en Pharmacie :

MONSIEUR LE PROFESSEUR POLLOSSON
MONSIEUR LE PROFESSEUR JOSSERAND
MONSIEUR LE DOCTEUR PLAUCHU
MONSIEUR LE PROFESSEUR PAUPÉRT-RAVAULT
(3 semestres).

A NOS CONFERENCIERS D'EXTERNAT ET D'INTERNAT

DOCTEUR FAVRE-GILLY

DOCTEUR GAILLARD

DOCTEUR DURAND

DOCTEUR CHASSAGNON

AUX DOCTEURS JACQUES BLANC, DANIEL COLOMB
ET JEAN-ROBERT BRESSON

Compagnons de toujours dans les heures tristes et joyeuses.

A MONSIEUR CL. QUINCY

En remerciement de l'aide qu'il m'a apportée.

A MESDEMOISELLES BILLOUD, JAMBON ET PERRIN

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE

Les affections rénales sont demeurées longtemps des maladies mal connues, et, si de nos jours, le voile de mystère les entourant commence à se dissiper, bien des points obscurs subsistent, ce qui fait que l'étude de la pathologie rénale est loin d'être achevée.

La faute en incombe à plusieurs facteurs : à *la structure histologique du tube urinifère*, bien connue seulement depuis peu, à *la physiologie complexe* de la sécrétion rénale, *aux étiologies* souvent mal établies des différents syndromes rénaux et à leur pathogénicité la plupart du temps inconnue ou expliquée par des hypothèses sans bases expérimentales.

L'évolution des connaissances, dans le domaine rénal, est toujours allée de pair avec la mise au point de nouvelles techniques : d'exploration d'abord, d'expérimentation pure ensuite.

1. — LA PREMIERE ETAPE fut la découverte d'une élimination urinaire de protéine par Frédérique Dekben en 1694, par le moyen de la coagulation en milieu acide et le rattachement à une origine rénale par Cotogno en 1754. L'étude biologique se résumait alors à un examen macroscopique des urines avec mise en évidence de l'albumine urinaire, les dosages quantitatifs étant impraticables avec les techniques de l'époque.

2. — LA DEUXIEME ETAPE fut, avec Richard Bright, de 1827 à 1840, une étape anatomique ; il étudie le rein macroscopiquement et essaie de rattacher les différents syndromes cliniques aux différents états anatomiques.

Bien que Bright ait créé de toutes pièces la pathologie rénale et que, peut-être, selon le mot de Chauffard et Laederich « il ait tout vu, indiqué ou pressenti », le maintien sur un plan

exclusivement anatomo-clinique de l'étude de la pathologie rénale entraînait une sidération du développement des connaissances. L'absence d'expérimentation ou du moins une expérimentation souvent mal effectuée ne donna jour qu'aux discussions sans grande portée pratique qui séparèrent bientôt les unicistes, tenant de la progressivité d'un même processus avec passage par des stades successifs, et les dualistes prônant la diversité des lésions. De même sans expérimentation valable, deux théories ne peuvent pendant longtemps être départagées : celle imputant le syndrome néphritique à une lésion rénale, et celle, soutenue par Graver et Gemola, qui avançaient que l'origine du mal se trouvait dans un trouble des humeurs. Il fallut attendre les expériences systématiques entreprises de nos jours pour constater que les deux théories ne s'éliminaient pas absolument et que le rénal et l'extra-rénal sont choses complexes ne s'excluant pas.

3. — LA TROISIEME ETAPE est placée sous le signe de la biologie avec débordement sur le terrain pathogénique. Cette étape est encore en pleine évolution et, si les études pathogéniques prennent actuellement un développement considérable le stade de la biologie appliquée à la clinique n'en continue pas moins grâce aux nouvelles techniques mises en œuvre : clearances, électrophorèse, etc.

A vrai dire, malgré le développement des études morphologiques du début du 19^e siècle, certains auteurs s'étaient déjà tournés vers le côté biologique : le dosage de l'urée sanguine remonte à 1836. Toutefois, pendant 80 ans, malgré de nombreuses et louables tentatives, la plupart du temps, la recherche biologique du médecin se cantonnait au carbonate d'ammonium et à la densité urinaires. C'est à partir de 1880, en fait, que la pathologie rénale alla vraiment de l'avant avec l'adoption du laboratoire par la clinique. Ce sont alors une succession de travaux et de découvertes avec Vidal, Ambard, Winter et Théaulan, Pasteur, Valéry, Radot, etc. En quelques dizaines d'années la clinique se trouva enrichie d'un nombre très important d'épreuves de laboratoire qui permettent d'étayer solidement le diagnostic et pronostic.

Parallèlement à la biologie clinique, des études sur la constitution et les variations des protéines urinaires et sanguines dans les affections rénales se poursuivaient avec des méthodes

essentiellement chimiques (précipitation, relargage, etc.). Pendant très longtemps il ne s'agit que de l'étude des rapports entre albumine et globuline.

En 1866, Lehmann, à Copenhague, met les globulines urinaires en évidence ; dès 1874, Sevalor signale le haut pourcentage des globulines urinaires, dans les néphrites aiguës et les maladies amyloïdes.

De 1874 à 1927 éclot toute une série de communications sur les protéines urinaires :

Hoffmann montre que le rapport albumine/globuline dépend de l'intensité des atteintes rénales et que le pronostic s'améliore avec une baisse des globulines.

Lecorche et Talamon décèlent les rechutes par une augmentation des globulines.

Castery étudie les rapports albumine/globuline dans les différentes formes d'atteintes rénales.

Mac Intork et Van Slyke reprennent cette question à partir d'un nombre de cas considérable des différentes affections.

En 1936, Leutcher note que les globulines de l'urine augmentent avec l'élévation des globulines sériques ; Melneck et Field reprennent la question et comparent les rapports S./G. dans le sérum et dans l'urine.

4. — UN CERTAIN FLECHISSEMENT commençait à se manifester, après la flambée du début dans les recherches de laboratoire, qui risquaient de sombrer dans la routine, lorsque des techniques absolument nouvelles leur redonnèrent l'élan et leur permirent de déborder sur le terrain pathogénique tout en restant d'un grand apport pour la clinique. Ce furent d'abord les techniques qui permirent le fractionnement des deux grands groupes protéiques isolés précédemment et étudiés en bloc jusqu'alors : la sérum albumine et les globulines.

a) *En premier lieu* apparut une méthode physique dont le principe est le suivant : en faisant passer un courant continu de force électromotrice constante dans une dilution de sérum en milieu tamponné, pour conserver un Ph fixe et avoir par conséquent une dissociation constante des protéines, Tiselius s'aperçut que les globulines se fractionnaient en 4 sous-groupes : α_1 , α_2 , β , γ globulines. En se plaçant dans des conditions de pH différent les β et les γ globulines peuvent se subdiviser elles-mêmes en

sous-fractions. Cette technique a été appliquée à la pathologie rénale, tant pour étudier les protéines sériques subissant une soustraction urinaire permanente que pour analyser les fractions émises dans l'urine.

b) *En deuxième lieu* ce fut une méthode de fractionnement chimique, mise au point par Cohn et intéressant surtout la grande industrie, qui trouve ainsi un moyen de séparer les fractions avec bon rendement. Les essais de superposition de cette méthode avec la méthode électrophorétique donnent des résultats exacts dans l'ensemble mais ne correspondant plus si on étudie le détail. Ils ne font que confirmer la complexité des protéines.

c) A côté de l'étude des différentes fractions protéiques, la connaissance des atteintes du rein progressait grâce à des techniques modernes permettant l'exploration fine des différentes parties du tube urinifère ; elle bénéficiait des travaux physiologiques menés à bien par Richard et Plant aux U. S. A. grâce aux possibilités des micro manipulations ponctionnant les différentes parties du néphron et permettant de doser ainsi les corps présents par des micro-méthodes. Les applications cliniques sont les épreuves de clearance qui assurent à peu près seules une vue exacte du degré d'atteinte rénale, en mesurant électivement l'activité de telle ou telle partie du néphron.

CHAPITRE II

L'idée qui préside à cette thèse est d'essayer de tirer des conclusions, tant au point de vue diagnostic qu'au point de vue pronostic ou pathogénique, de l'emploi de l'électrophorèse joint à celui des clearances ; pour arriver à ce résultat, d'une part nous fîmes systématiquement ensemble l'électrophorèse urinaire et sérique dans les différentes affections rénales donnant de l'albuminurie, d'autre part nous avons essayé de calculer de la façon la plus exacte possible les clearances des différentes fractions urinaires révélées par l'électrophorèse. En réunissant les résultats par étiologie, nous avons pu les comparer au sein des différents groupes ainsi constitués.

Des électrophorèses simultanées du sérum et de l'urine, pratiquées systématiquement ensemble, il semble ressortir un certain nombre de conclusions sur le fonctionnement du rein malade et des renseignements complémentaires que n'apporte pas l'électrophorèse sérique seule. Une interprétation physiopathologique des résultats peut être tentée en fonction des lésions glomérulaires et de la porosité de la membrane rénale.

CHAPITRE III

RAPPEL DU MECANISME DE LA PROTEINURIE

Généralités sur la sécrétion rénale :

Grâce aux expériences de ponction du tube rénal, rappelées plus haut, on connaît actuellement assez bien le mécanisme de la sécrétion rénale. Classiquement le glomérule serait un ultra-filtre laissant passer l'eau et les sels du plasma aux concentrations de ce dernier. Les protéines seraient retenues dans le torrent circulatoire à partir d'un poids moléculaire de 70.000 environ, comme l'ont montrées les expériences d'injection ; l'hémoglobine serait donc à la limite du passage. Le tube urinaire réabsorberait plus ou moins les différentes substances filtrées, dans des proportions variant avec le corps envisagé.

Ceci n'est qu'un exposé très succinct ne tenant pas compte des facteurs de la filtration ou de la régulation neuro-hormonale. L'albuminurie, phénomène apparemment anormal, ne paraît pas entrer, à première vue, dans cette conception. En fait, elle n'est qu'un cas particulier, aggravé de la sécrétion rénale. En effet, des travaux récents (45, 46) ont montré qu'à l'état physiologique le rein de l'individu normal excrète de l'albumine à des taux très faibles mais suffisants pour être mis en évidence par la réaction générale des protéines après concentration des urines. Les atteintes pathologiques ne feront qu'exagérer ce phénomène. Le mécanisme du passage des molécules protidiques à travers le filtre rénal sera discuté plus loin.

Quelle est l'origine des protéines urinaires ?

Elles sont non seulement de provenance plasmatique mais les protéines plasmatiques sont les seules que l'on retrouve dans

l'urine. Plusieurs preuves peuvent être avancées. L'immunologie a montré que les réactions immunologiques sont les mêmes pour les protéines urinaire et sérique ; l'électrophorèse simultanée du sérum et de l'urine d'un albuminurique révèle une série de fraction de mobilité identique et superposables. Ces protéines, tout en étant quantitativement différentes, sont qualitativement les mêmes ; il faut toutefois excepter certains cas pathologiques où les protéines anormales passent dans l'urine (injection par exemple), cette protéine anormale n'étant pas toujours retrouvée dans le plasma sanguin.

Une hypothèse est tout de suite à rejeter : c'est celle avancée par Fisher de la formation de l'albumine urinaire à partir des cellules desquamées du tube urinifère ou des voies urinaires basses.

Dans ces cas, l'albumine est très faible, malgré la quantité très élevée de cellules émises.

Voie d'introduction dans l'urine :

Il reste à discuter la voie d'introduction des protéines dans l'urine. Elle est essentiellement glomérulaire. En faveur de cette hypothèse. Il y a tout d'abord l'histologie du glomérule, membrane mince séparant le plasma du liquide intra-capsulaire. Mais ce sont surtout l'anatomie pathologique et l'anatomie comparée qui apportent des preuves solides : en fixant brusquement un rein de néphropatique par un réactif à chaud on voit sur la coupe histologique des précipités floconneux dans la capsule de Bowmann. Les poissons possédant un glomérule peuvent, dans certaines conditions, sécréter dans leur urine des quantités massives d'albumine provenant, soit des protéines de leur organisme, soit de protéines marquées qu'on leur a injectées auparavant, phénomène dont sont absolument incapables les poissons agglomérulés. Ainsi il semble que l'on puisse suivre les conclusions d'Addis quand il déclare « sans glomérule pas d'albuminurie ».

Production de l'albuminurie :

1. — HYPOTHÈSE DE L'HYPEREXCRÉTION GLOMÉRULAIRE :

a) *Cas général* :

Le rein, à l'état normal, peut excréter des protéines par le glomérule; ce phénomène devra être exacerbé par les mêmes causes pathologiques que celles favorisant le passage des protéines dans les espaces interstitiels du reste de l'organisme :

— Causes mécaniques : stase, asphyxie, hypertension veineuse.

— Causes inflammatoires : phénomène toxique ou anaphylactiques.

— Causes dégénératives : substance hyaline ou amyloïde précipitant sur les parois.

C'est ce qui se produit en clinique et toute lésion du glomérule déclenche des albuminuries souvent massives. Par contre, toute lésion basse du tube rénal, sans atteinte prononcée du glomérule, ne s'accompagne que de faibles albuminuries.

b) Un groupe d'affections rénales semble être en opposition avec ce schéma. C'est celui de la *néphrose lipoïdique* et de la *néphrose amyloïde*.

A. — *Dans le cas de la néphrose lipoïdique* :

La lésion semble porter exclusivement sur les tubulis qui ont des aspects de dégénérescence avec accumulation intracellulaire de granulations albumineuses et lipoïdiques ; les glomérules paraissent intacts. La conclusion qui s'imposait était l'origine « dégénérative » de l'albumine urinaire.

Mais en 1928, Govaerts et Cordier [1] après des études approfondies de coupes du rein de néphrotiques, sont obligés d'admettre que l'accumulation dans les cellules tubulaires du cholestérol était due à une résorption, le cholestérol et les protéines plasmatiques ayant pénétré dans le néphron à travers les capillaires glomérulaires. Dès lors, la néphrose lipoïdique a pour lésion histologique essentielle une perméabilisation de la paroi des capillaires glomérulaires à la faveur de laquelle

passent les protéines et le cholestérol toujours très abondant dans cette affection. L'atteinte tubulaire n'est que secondaire et due à la résorption massive de produits anormaux. Des preuves ont été apportées : par des colorants spéciaux Dum a pu montrer que le glomérule soit-disant intact avait une membrane épaisse le rendant trop visible. L'apport dans le néphron d'amphibiens de sérum chargé de lipoïdes entraîne une réabsorption intense donnant des images de néphrose.

B. — *Dans les cas de néphrose amyloïde* les lésions apparaissent au premier abord essentiellement glomérulaires, tandis que les tubes ne seraient que peu atteints. En fait, le degré des lésions est analogue à la néphrose lipoïdique ; seulement la substance précipitée sur les glomérules est visible dans le cas de la néphrose amyloïde et la réabsorption tubulaire porte sur des granulations albumineuses peu apparentes.

2. — HYPOTHÈSE DE DÉFICIT DE RÉABSORPTION TUBULAIRE :

La notion d'albuminurie due à une perméabilité exagérée de la paroi des capillaires glomérulaires a été critiquée par certains auteurs dont Addis [2]. Pour eux, l'urine glomérulaire renferme toujours de l'albumine mais à un taux très faible et une grande quantité de protéine pénètre dans le néphron du fait du volume élevé de l'ultra-filtrat glomérulaire. Il faut donc que le tube rénal réabsorbe cette masse d'albumine se chiffrant par dizaines de grammes pour que l'on ne trouve pas d'albumine dans l'urine émise. Effectivement, par perfusion de sérum froid, qui inhiberait la fonction de réabsorption, on obtient une urine qui renferme de l'albumine à un taux voisin de la teneur habituelle du filtrat glomérulaire ; de même, si on élève artificiellement la protéinémie à 100 gr. $\%$ ₁₀₀ on déclenche une protéinurie sans lésion rénale associée et cessant avec la suppression de la cause. Dans ce dernier cas on serait donc en présence d'un phénomène de seuil.

De ces notions il résulte que : si une filtration-réabsorption existe pour les protéines urinaires, certaines protéinuries pathogènes pourraient s'interpréter comme un déficit des fonctions tubulaires sans atteinte glomérulaire.

Mécanisme de la protéinurie :

Travaux expérimentaux modernes de Lambert et conception moderne de la physio-pathologie des protéinuries.

1. — PASSAGE DES PROTÉINES A TRAVERS LE GLOMÉRULE :

Une expérimentation très poussée a été faite par Lambert sur cette question. Ses travaux portaient sur les points suivants :

— Faire la part de la filtration, de la diffusion et de la réabsorption dans l'excrétion des protéines.

— Etudier l'excrétion des protéines en faisant varier expérimentalement ces facteurs.

— Appliquer ces données en physiopathologie humaine.

Cette étude fut effectuée essentiellement par les mesures de la clearance de l'hémoglobine que l'auteur introduisait dans le sang d'un chien en quantité déterminée. En faisant varier les facteurs pouvant jouer sur la filtration et la réabsorption, il notait d'une part les quantités d'hémoglobine émises par le glomérule et, d'autre part, celles passées dans l'urine.

Les résultats trouvés pour l'hémoglobine sont analogues à ceux obtenus avec la myohémoglobine. Peut-on les extrapoler aux protéines plasmatiques ? Il est délicat de donner une réponse car il est difficile d'élever suffisamment le taux des protéines plasmatiques. Toutefois, quand on a pu réaliser cette expérience, la même notion se dégage qu'avec l'hémoglobine : il y a un seuil d'excrétion pour toutes les protéines qui peuvent traverser le filtre glomérulaire.

2. — FACTEURS AGISSANT SUR LE PASSAGE DES PROTÉINES :

Les protéines peuvent donc traverser la paroi glomérulaire et une notion de seuil d'excrétion apparaît alors.

Toute une série de facteurs peuvent jouer sur ce passage des protéines.

a) *Structure histologique du glomérule :*

Le problème de la structure histologique de la paroi glomérulaire a été repris dernièrement et de très grands progrès ont été faits dans l'étude de cette question grâce à l'emploi du microscope électronique. Des travaux récents [47] d'auteurs américains ont ainsi apporté de nombreuses précisions.

Actuellement, la structure de la paroi glomérulaire semble être la suivante :

A l'intérieur, la paroi capillaire du réseau « porte » du glomérule formé d'éléments cellulaires endothéliaux laissant entre eux des passages ou pores intercellulaires.

Au milieu une membrane continue, non fibrillaire, non formée de tissu conjonctif car ne prenant pas les colorants de ce dernier ; elle comprend deux parties : une centrale plus réfringente, une périphérique moins réfringente.

A l'extérieur, la membrane interne de la capsule de Bowman, constituée elle-même par des éléments cellulaires *discontinus*, les podocytes, formés d'une partie centrale envoyant des prolongements qui les réunissent entre eux. Entre les prolongements se trouvent de véritables « trous » où seule la membrane du milieu persiste.

Du fait de la structure discontinue des parois externes et internes, le rôle de la membrane médiane apparaît comme particulièrement important. En effet, elle est la seule formation qui sépare réellement le courant sanguin et l'urine et il semble bien que ce soit elle qui règle les échanges entre les deux milieux.

b) *Facteurs physiques :*

Ils limitent le passage transmembraneux.

La porosité des capillaires glomérulaires semble, en effet, bien établie. Le passage de substances colloïdales colorées bien définies ayant les mêmes limites de perméabilité que les protéines se fait selon les règles physiques de circulation à travers les parois poreuses ; c'est-à-dire la diffusion et la filtration. La part respective de ces deux facteurs fut étudiée expérimentalement d'abord par Krogh, puis par Papenheim, Renkin et Borréo qui appliquèrent au rein les résultats de leurs expériences sur le passage des protéines dans le liquide interstitiel d'une patte de chat perfusé. A partir de la grosseur des molécules en jeu,

de la pression nécessaire et de la vitesse de passage des protéines ils établirent que la porosité glomérulaire était cent fois plus grande que la porosité des capillaires. Ceci corrobore le fait que l'hémoglobine passe à travers la paroi glomérulaire mais non à travers la paroi capillaire. Les mêmes auteurs étudient ensuite sur la préparation de patte de chat les modalités de passage des substances non liposolubles telles que l'urée, le glucose. La mesure des variations de pression osmotique, jointe à la mesure des pressions exercées et des vitesses de passage, leur ont permis de calculer la surface disponible pour une libre diffusion des molécules dissoutes à travers les membranes. La surface des pores disponibles ne varie pas avec les changements de flux, mais elle diminuera avec l'augmentation de la grosseur des molécules. Une formule fut établie pour la mesure de la surface théorique de diffusion ; cette formule est difficilement applicable au glomérule car le flux liquidien continu gêne l'étude séparée de la diffusion et de la filtration. Toutefois, compte tenu des erreurs que cela entraîne, le facteur diffusion fut trouvé trois fois supérieur au facteur filtration.

Il apparaît donc que dans la formation du filtrat glomérulaire la diffusion a un rôle plus important que la filtration en assurant, de part et d'autre de la membrane, l'égalité des concentrations des substances dissoutes du plasma, égalité qui ne serait jamais atteinte sans le facteur diffusion. Pour les protéines l'égalité de concentration n'est jamais atteinte par suite de la grosseur des molécules et du temps de contact très court du plasma avec le glomérule, et là encore, la part la plus importante revient à la diffusion. Ces résultats physiologiques établissant la prédominance de la diffusion sur la filtration, concordent très bien avec les connaissances nouvelles sur la structure histologique du rein, et les travaux de deux disciplines différentes tendent ainsi aux mêmes conclusions quant au passage des protéines à travers la membrane glomérulaire.

c) *Facteurs physiologiques :*

Le rôle des facteurs physiologiques est mal connu. Lambert, en comparant les clearances de l'hémoglobine et de la créatinine chez 9 chiens, après injection d'adrénaline, constate que les variations de ces clearances tendent plutôt à prouver le rôle prépondérant de la diffusion sur la filtration vis-à-vis des

grosses molécules. En effet, la créatinine, corps très diffusible, a un taux urinaire décroissant avec le ralentissement du débit mais proportionnel au volume filtré ; la concentration urinaire de l'hémoglobine augmente au contraire. Comme le débit est diminué, seule la diffusion peut expliquer cette augmentation par suite du temps de contact plus long.

3. — FACTEURS SUSCEPTIBLES DE MODIFIER LA PERMÉABILITÉ DE LA MEMBRANE GLOMÉRULAIRE :

Différents produits ont été essayés, le glycocholate de sodium et l'uréthane augmentent la concentration urinaire en protéines, la caféine la diminue ; avec la hyaluronidase aucune modification n'a été trouvée. Les hormones surrénaliennes réduisent la protéinurie d'où leur application dans les néphroses.

Sur le plan expérimental on n'a pas fait d'autres mesures fonctionnelles que les électrophorèses, les dosages des protéines sanguines et urinaires et les ionnogrammes du malade. En particulier, aucune mesure du flot rénal et de la diurèse osmotique n'a été pratiquée.

CHAPITRE IV

TECHNIQUE EMPLOYEES

Généralités.

Le problème des techniques est primordial.

De leur précision et de leur exactitude, en un mot de leur correction, découle la valeur des résultats. Elles ont un rôle déjà considérable pour les études qualitatives seules, mais, lorsque l'on passe aux études quantitatives elles prennent une importance fondamentale et aucun résultat quantitatif valable ne pourra être donné si l'on n'est pas sûr de la technique employée.

Nous allons exposer très brièvement le travail expérimental suivi, puis nous discuterons les points particuliers de technique en nous efforçant de bien mettre en évidence les « tours de main » nécessaires, de même que les incidents que nous avons pu rencontrer. Nous tenons à répéter, ici, qu'il ne s'agit que d'électrophorèse sur papier car nous n'avons jamais pratiqué d'électrophorèses en cuve type Tiselius. Par ailleurs, nous tenons également à préciser qu'il s'agit, avant tout, d'un travail de biologie clinique et non pas de recherche pure, c'est-à-dire que les techniques utilisées furent choisies d'une part en fonction de leur précision et de leur fidélité, mais encore en fonction de leur commodité et de leur rapidité d'application. Entre une technique d'une précision rigoureuse mais longue et une autre plus rapide mais un peu moins précise, tout en offrant une garantie suffisante, ce fut cette dernière qui fut choisie. Enfin nous signalons que les électrophorèses ayant servi au calcul des clearances furent révélées par les colorants généraux des protéines ; nous avons cependant effectué d'assez nombreuses colorations avec colorants électifs des lipides et des glucoprotéines.

La marche suivie par les électrophorèses de nos malades fut la suivante :

— Récolte d'un échantillon moyen des urines de 24 heures avec relevé du chiffre de la diurèse.

— Prise de sang le malade étant à jeun.

— Dosage des protéines sanguines par la méthode du Biuret et des protéines urinaires par néphélométrie (la comparaison se faisant avec une gamme étalon au sulfate de baryum).

— Concentration des urines plus ou moins poussée suivant la teneur en protéines au départ.

— Electrophorèses simultanées dans le même bac du sérum et des urines concentrées.

— Colorations simultanées des bandes obtenues, soit par les colorants généraux des protéines, soit par ceux qui sont sensés colorer électivement tel ou tel groupe protéique.

— Lecture des bandes ainsi révélées à la cellule photoélectrique.

— Décomposition de la courbe ainsi obtenue par projection des courbes de Gauss.

— Planimétrie et mesure des surfaces correspondantes à chaque fraction isolée.

Prélèvement :

Les prises de sang furent pratiquées avec un matériel parfaitement sec. Les urines furent prélevées dans la cantine contenant l'émission totale des 24 heures avec, de préférence, quelques gouttes de chloroforme pour empêcher la pousse microbienne.

Dosage des protéines dans les échantillons recueillis :

A. — DANS LE SÉRUM SANGUIN :

La méthode du Biuret fut employée à peu près exclusivement, sauf dans deux ou trois cas dont nous reparlerons plus loin.

Cette méthode, actuellement d'usage courant, est satisfai-

sante dans la majorité des cas ; toutefois, il faut noter des exceptions qui, pour être rares, n'en existent pas moins. Nous éliminons d'emblée les cas d'hémolyse sanguine par suite de l'emploi d'un matériel insuffisamment sec ou du décollement trop énergique du caillot ; on ne peut tolérer qu'une lyse très légère car dès qu'elle est un peu importante, on note un changement dans la coloration du Biuret qui passe au violet sale d'où une erreur dans le dosage. Cette erreur est indépendante de celle qui est due à la surcharge des bêta globulines par l'hémoglobine libérée par l'hémolyse entraînant une augmentation artificielle du pourcentage de cette fraction avec abaissement relatif de celui des autres constituants protéiques.

Nous avons relevé, pour cette technique d'autres défaillances :

Le premier cas fut celui d'un sérum très riche en lipides (il s'agissait d'un néphrotique stabilisé présentant un sérum lactescent). Le dosage des protéines totales par le Biuret donnait des chiffres relativement élevés (40 grammes en moyenne), tandis que l'établissement du rapport sérine-globuline, après précipitation des globulines et coloration de la fraction sérique restante, montrait une absence presque totale de sérum albumine. Ce résultat était d'autant plus invraisemblable que le malade était peu œdématié et avait une électrophorèse sérique montrant une fraction de sérum-albumine assez abondante. Le dosage des protéines totales de la sérum-albumine de ce malade fut refait par la méthode de Kjeldahl après minéralisation et précipitation des globulines par le sulfate de soude à 232 $\frac{\circ}{100}$. Nous avons trouvé ainsi les protéines totales à 32 grammes $\frac{\circ}{100}$ et l'association sérum-albumine - α_1 globulines à 16 grammes $\frac{\circ}{100}$.

Le deuxième cas de défaillance du Biuret n'a pas été relevé au cours de ce travail mais a été signalé par les auteurs américains [7] dans certains cas de myélome où la technique de Gornall n'aurait montré qu'une protéinémie voisine de 70 gr. tandis que la méthode de minéralisation de Kjeldahl aurait donné des chiffres supérieurs à 100 gr. Ils interprétaient cette anomalie comme étant sous la dépendance de la constitution anormale des protéines du myélome. La réaction du Biuret étant basée sur la présence de groupements peptidiques, les auteurs américains concluent que ces protéines anormales ne renferment que très peu de ces groupements.

B. — DANS LES URINES :

Le dosage de l'albumine était pratiqué par réphéломétrie.

La gamme de référence était constituée par des dilutions croissantes de suspension de sulfate de baryum. L'albumine urinaire était précipitée par l'acide trichloracétique à 20 % après dénaturation par chauffage à 70° pendant 30 secondes environ.

Concentration urinaire :

A. — GÉNÉRALITÉS :

Toute une série de problèmes se sont posés du fait de l'électrophorèse urinaire. En effet, alors que l'électrophorèse sérique est actuellement à peu près au point et ne présente pas de difficultés particulières du fait de la teneur suffisamment élevée des protéines sériques, l'électrophorèse urinaire est gênée, dès son départ, par le relativement faible taux protéique urinaire, d'où la nécessité de concentrer avec tout ce que cela peut comporter comme risque d'erreur ou de dénaturation. Il faut penser à une interaction possible des sels minéraux sur les protéines urinaires soit par un phénomène de relargage après concentration de l'urine, soit par le rôle des ions sur la migration des protéines sous l'action du courant électrique. D'autre part la dénaturation protéique est menaçante à tout instant au cours de cette concentration, tant par suite des conditions où l'on opère que par l'augmentation relative de la concentration de corps normalement présents dans l'urine, tels que l'urée ou la guanidine, corps doués d'un haut pouvoir dénaturant.

B. — CONDITIONS OPTIMA DE LA CONCENTRATION :

— Technique simple avec matériel le moins compliqué possible.

— Rapidité pour éviter la pousse microbienne provoquant des traînées dans la coloration.

— Conditions de travail évitant la dénaturation des protéines et leur précipitation.

C. — INTENSITÉ DE LA CONCENTRATION :

Elle varie avec les possibilités de chaque technique ; mais elle sera guidée par la nécessité d'aboutir à un taux de protéine urinaire entre 15 et 20 ‰. En effet, nous nous sommes aperçus que, pour qu'une électrophorèse urinaire soit nette et bien colorée, il fallait que l'urine renferme ce taux de protéine. Au dessous, la fraction albumine reste toujours bien visible mais les fractions globuliniques s'atténuent très vite.

D. — TECHNIQUE DE LA CONCENTRATION :

Différentes techniques, facilement mises en œuvre dans un laboratoire de clinique, furent essayées.

1. — *Dialyse contre un liquide à forte pression osmotique :*

L'urine est introduite dans un sac formé par une membrane filtrante de 2 à 3 cm. de diamètre en doigt de gant fermé à la partie inférieure. La partie supérieure est maintenue ouverte par un système banal : manchon de verre, etc. Le tout est introduit dans une éprouvette remplie de butosan. L'eau et les sels abandonnent progressivement le milieu urinaire.

a) Les inconvénients paraissent être les suivants :

— la longueur de l'opération (plus de 24 heures et parfois 2 jours pour les petites albuminuries) qui rend difficile les examens en série.

— le risque de précipitation des urates colmatant les pores de la membrane filtrante ; en effet, pour éviter ou du moins retarder la pousse microbienne, qui provoque souvent des traînées dans l'électrophorèse, il est préférable de mettre au froid l'urine qui dialyse ; on a alors assez souvent des précipitations d'urates. On peut éviter cet inconvénient en mettant dans un premier temps l'urine à basse température ; les urates précipitent et seront éliminés par centrifugation. La concentration pourra alors commencer.

— le dépôt d'une mince couche de protéine sur la paroi interne, au fur et à mesure que la quantité de liquide diminue. Ce film protidique sera difficile à enlever par rinçage au sérum

physiologique au moment de la récupération du liquide concentré.

— la nécessité d'une membrane dialysante de bonne qualité : au début nous avons essayé de faire nous-mêmes nos membranes à partir du collodion du Codex. Dans une solution froide de collodion on plongeait un moule en verre légèrement conique et refroidi également afin d'éviter la formation de toute bulle d'éther rendant la membrane impropre à tout usage. En retirant ce moule très progressivement et après lavage prolongé dans l'eau, on obtient un manchon de collodion mince sur lequel on met une deuxième couche de collodion par le même procédé. Il est alors assez facile de le détacher par retournement progressif.

Des dialyses obtenues par ce procédé étaient très longues (3 à 4 jours) ce qui explique que nous n'avons jamais pu nous servir de ces membranes pour nos expériences. La faute en était certainement au collodion employé car, avec le même procédé, mais avec un collodion spécial fabriqué par les établissements Giffrier et Barbézat, des dialyses ont pu être pratiquées assez facilement. Le plus simple est de se servir de membrane filtrante ; nous avons employé les membranes de la Visking Corporation (« Cellulose Casings ») de Chicago ; elles sont livrées en rouleau dans lequel on découpe un segment que l'on ferme à sa partie inférieure par un lien quelconque.

- le passage dans l'urine à concentrer de petites molécules de la solution hypertonique extérieure d'où formation d'un équilibre limitant la concentration par égalisation de la pression osmotique. Cet inconvénient, signalé par les auteurs américains [4] existe en fait surtout avec l'emploi du Dextran comme liquide hypertonique, nous ne l'avons jamais rencontré avec le Subtosan dont les molécules sont de taille beaucoup plus constante.

b) Les avantages sont l'absence de dénaturation et de précipitation des protéines par les sels et la possibilité de concentration très supérieure à celle des autres techniques. Aussi c'est le procédé que nous employons actuellement pour concentrer les urines depuis que nous avons abandonné l'examen systématique de tous les albuminuriques.

2. — *Filtration d'une urine par aspiration à travers une membrane filtrante :*

La membrane était un sac de collodion monté sur une bougie de porcelaine servant de support poreux. Le tout était plongé dans une éprouvette contenant l'urine à concentrer. Le vide était pratiqué avec une forte trompe à vide à l'intérieur de la bougie. La qualité de la membrane a, ici, moins d'importance pour la durée des opérations mais l'inconvénient est le ralentissement progressif de la vitesse de filtration à mesure de la diminution de la quantité d'urine de sorte que l'on est limité dans l'importance de la concentration à 3 ou 4 fois.

Nous n'avons pas retenu ce procédé.

3. — *Ultrafiltration par pression :*

Essayée par les auteurs américains [4] nous ne l'avons pas employée. Un gros inconvénient est constitué par la nécessité d'une élution très difficile des protéines « collées » contre la paroi du filtre. On est obligé de dissoudre la membrane de collodion pour récupérer les protéines d'où un risque non négligeable de dénaturation. De plus, le filtre, ayant le plus souvent des pores de diamètre variable, laisse passer certaines molécules protidiques, d'où changement dans la proportion des protéines en présence.

4. — *Concentration sous vide à une température ne dépassant pas 30° :*

La valeur de cette méthode est intermédiaire aux précédentes ; elle n'est pas parfaite car elle ne permet pas des concentrations très élevées et présente des risques indéniables de dénaturation ou de précipitation des protéines si elle est pratiquée sans précaution.

a) *Réalisation pratique :*

Filtration et centrifugation de l'urine de manière à avoir le maximum de limpidité.

Introduction d'une quantité calculée d'urine dans un Erlen pouvant être obturé facilement par un bouchon perforé branché sur une bonne trompe à vide avec flacon de garde. Un Erlen de 300 cm³ à col étroit convient très bien car il présente une assez grande surface d'évaporation pour la quantité relativement faible d'urine introduite.

Dégazéification de l'urine par aspiration à la trompe à vide à la température ordinaire : on agite légèrement pour activer le départ des gaz. La plupart du temps une mousse abondante se produit et s'évacue partiellement par le tuyau d'aspiration. Au bout de 10 à 15 minutes, la mousse a pratiquement cessé et l'ébullition se produit régulièrement et à petit bouillon. On mesure la quantité restante et on rétablit la quantité d'urine à la quantité du départ (généralement par 4 à 5 cm³).

Evaporation prudente dans un bain-marie réglé à 30° par un thermostat, l'Erlen étant incliné de manière que l'urine, à la fin de la concentration, ne soit pas en couche mince qui s'évaporerait alors très vite avec phénomène d'agitation très marquée. La durée de l'opération est assez variable ; elle varie de 2 à 4 heures généralement, d'où la nécessité de fréquents contrôles de volume, surtout à la fin quand la quantité d'urine est réduite.

Une fois achevée l'évaporation, il ne doit exister normalement aucun précipité ; s'il en existe un, il faut centrifuger à nouveau l'urine concentrée pour qu'elle soit limpide. Il ne reste qu'à mesurer le volume restant pour connaître la concentration exacte effectuée.

b) *Discussion :*

— Quantité d'urine à évaporer :

Il est important de prendre une quantité d'urine convenable au départ du fait de différents facteurs opposés qui interviennent dans les opérations. Il faut à la fois une quantité d'urine la plus faible possible, afin de raccourcir le temps de l'évaporation et une quantité d'urine suffisante afin que le volume final ne soit jamais inférieur à 15 fois, valeur extrême que l'on ne peut atteindre qu'avec des urines particulièrement pauvres en sels et urates ; le taux habituel est de l'ordre de 10 à 12 fois. En effet, il ne faut pas que la quantité finale d'urine dans le ballon d'évaporation tombe au dessous d'un certain chiffre sinon des bulles et des phénomènes de bouillonnement se produisent. Ce chiffre est variable avec la forme, le volume et la position du ballon d'évaporation ; pour nous, 5 cm³ était le plus souvent la valeur la plus basse à ne pas dépasser. Ces considérations expliquent que la quantité d'urine à évaporer ne puisse être que difficilement supérieure à 50 cm³.

— Action des sels minéraux au cours de la concentration :
Il est logique de craindre que les sels minéraux n'entraînent une précipitation plus ou moins importante des protéines urinaires par suite de leur concentration croissante. En fait il ne semble pas que ce soit une grosse cause d'erreur par suite du relativement faible taux de concentration (10 à 12 fois) ; de plus il s'agissait de néphrétiques, c'est-à-dire de malades ayant souvent une élimination urinaire en sels minéraux assez restreinte, comme nous avons pu le constater par de nombreux dosages de chlorures et phosphate dans l'urine. Chez de tels malades, le taux des chlorures, exprimé en chlorure de sodium, dépasse rarement, après concentration, 40 gr. ‰ ; souvent il est situé autour de 25 gr. 30 gr. ‰ .

Nous avons essayé pour éliminer les sels minéraux de dialyser une vingtaine d'urines contre un tampon de véronal sodique. Le résultat fut très mauvais car un équilibre se produisait entre le tampon et l'urine et, si les sels minéraux s'éliminaient bien, le véronal pénétrait dans l'urine et en concentrant, il précipitait, vu sa faible solubilité. De même, nous avons essayé de dialyser contre de l'eau distillée ; on obtenait rapidement une élimination totale des sels minéraux, mais, à la concentration, nous avons toujours eu une précipitation des protéines urinaires qui sont privées de l'effet stabilisateur des sels minéraux. Pour obtenir le minimum de précipitation, il semble qu'il faille laisser une certaine quantité de sels minéraux, de sorte qu'après concentration, le taux soit voisin de la teneur en sels minéraux du plasma sanguin.

Deux contre-épreuves furent pratiquées :

La première fut pratiquée sur du plasma sanguin pour essayer de voir l'influence des sels minéraux. A du plasma on ajoutait des solutions de concentration croissante d'un mélange de sulfate de sodium et de chlorure de sodium de telle manière que la dilution des protéines fut toujours la même ; seule augmentait la teneur en électrolytes. Les concentrations étaient choisies de façon à ce que, après addition au plasma, le mélange formé renferme un taux d'électrolytes allant de 10 gr. à 60 gr. ‰ . Ces chiffres correspondent à ceux trouvés dans l'urine des insuffisants rénaux après concentration. Une électrophorèse fut chaque fois pratiquée. Il n'y eut pour ces teneurs électrolytiques aucune différence entre les différentes électrophorèses.

La deuxième contre-épreuve fut réalisée dans le but de fixer l'importance d'une dénaturation possible des protéines urinaires par notre méthode de concentration. A une urine sans albumine, ayant une teneur normale en sels minéraux, on ajoutait une quantité déterminée de sérum sanguin dont on avait calculé la teneur en protéines totales. On recommençait avec des urines normales dont on avait enlevé partiellement les sels par dialyse. Les deux urines étaient concentrées environ 10 fois et une électrophorèse était pratiquée sur chacune d'elles après concentration, de même que sur le sérum seul. Les électrophorèses étaient comparées entre les deux urines et le sérum ; de petites modifications furent relevées. L'urine n'ayant pas subi de dialyse donna une image électrophorétique floue avec des fractions assez mal individualisées ; l'électrophorèse de l'urine ayant dialysée fut beaucoup plus nette et se rapprocha sensiblement de l'électrophorèse sérique ; les fractions étaient seulement plus rapprochées mais la décomposition en courbes de Gauss donna un pourcentage sensiblement identique à celui obtenu dans le sérum.

— Dénaturation des protéines par cette méthode :

Le grand danger est évidemment la dénaturation des protéines, étant donné les conditions de travail. D'après Neurath, la dénaturation est une modification non protéolytique de la structure d'une protéine native, entraînant des changements définis des diverses propriétés physiques, chimiques ou biologiques. Les agents de dénaturation sont très divers et peuvent être classés en agents physiques, chimiques et biologiques, chacun d'eux pouvant intervenir dans la concentration des urines.

Les agents physiques : il faut en retenir deux principaux : la chaleur : l'action de la chaleur est variable avec le milieu ; alors que le pouvoir dénaturant est le plus grand en milieu acétonique ou alcoolique, en milieu aqueux il est beaucoup plus faible et permet par conséquent de travailler à température pas trop basse. Différents auteurs ont étudié l'action dénaturante de la chaleur sur les protéines. Barbu et Machebœuf [10] ont constaté que l'albumine chauffée à 80° pendant 10 minutes provoque une grande traînée à l'électrophorèse. De même, Biserte et Charbonnier auraient constaté [25] que le séjour du plasma à l'étuve à 37° provoquerait une baisse des bêta globulines et une augmentation des alpha-2 globulines.

Pour notre travail, nous avons réglé le rhéostat du B. M. à 30° mais, en fait, la température de l'urine n'était qu'à 25 ou 26° par suite de l'évaporation.

L'étalement des surfaces : elle est due, en particulier, à l'agitation et aux bulles et entraîne une rupture des ponts interpeptidiques ; ceci explique la nécessité de dégazéifier prudemment l'urine avant de concentrer, en employant le temps nécessaire. En effet, une fois la dégazéification achevée, l'urine s'évaporerait sans cesse avec assez de régularité sans phénomène tumultueux à la température relativement basse à laquelle nous travaillions. Ceci explique également que nous évaporions l'urine en inclinant l'Erlen de sorte que le liquide final ne soit pas trop étalé.

Les agents chimiques : ils sont beaucoup plus gênants car il est plus difficile de lutter contre eux. Un agent dénaturant très important se trouve toujours dans l'urine : l'urée. Ceci est encore une des raisons qui nous obligea à ne pas trop concentrer par cette méthode d'évaporation ; ici la dialyse préalable aurait, par contre, un rôle favorable. Mais la remarque que nous faisons au sujet de la faible teneur des sels minéraux urinaires de nos malades peut également être faite pour l'urée ; seulement il existe toujours des néphrites qui ne font pas de rétention d'urée et qui ont des taux normaux dans l'urine. Seule la limitation de la concentration peut remédier à la présence de l'urée.

Les agents biologiques : Ce sont essentiellement les enzymes. Il semble qu'elles n'aient, ici, qu'un rôle secondaire, l'urine n'en contenant pas des quantités suffisantes.

Avantages et inconvénients de notre méthode de concentration : Après l'exposé détaillé de cette méthode de concentration, il apparaît bien qu'elle doit être considérée comme une méthode particulière à laquelle on ne doit pas demander plus qu'elle ne peut. Elle rend de grands services par sa rapidité. En ne dépassant pas les taux de concentration indiqués et en respectant les conditions de dégazéification et de température, on obtient des électrophorèses qui sont comparables à celles réalisées après concentration par la méthode au Subtosan, comme nous avons pu le vérifier. Dans notre cas où nous ne cherchions qu'à pratiquer une électrophorèse urinaire, donnant des bandes

nettes, aux fractions bien séparées, permettant de calculer le pourcentage de celles-ci, connaître le taux exact de la concentration ne nous intéressait pas. En résumé il apparaît que cette méthode peut être acceptable dans le domaine biochimique ; par contre, il est évident qu'elle laisse à désirer pour tout travail très précis pour lequel la concentration par dialyse contre Subtosan est nettement supérieure.

Electrophorèse sérique et urinaire :

Elles furent pratiquées suivant des techniques classiques.

Cette question a été dernièrement reprise dans la thèse de J. Dumont [49] sur l'électrophorèse des tissus cancéreux.

MATÉRIEL :

Nous nous sommes servis de bandes de papier Arches 302 de 2 cm. 5 de large et Arches 304 de 4 cm. de large suivant que nous faisions un protidogramme, un glucidogramme ou un lipidogramme. Le tampon utilisé était un tampon au véronal/véronal sodique de $\text{pH} = 8,4$ vérifié au pH mètre. Pour éviter la pousse microbienne, nous le conservions sur quelques gouttes de chloroforme ; il était refait tous les 6 ou 7 examens. L'appareil d'électrophorèse était celui de la maison Jouan, modèle 1953, avec lecteur à avance automatique, et cuve prévue pour pouvoir pratiquer trois électrophorèses simultanées.

PRATIQUE DE L'ÉLECTROPHORÈSE :

a) Les bandes de papier étaient trempées dans le tampon pendant quelques instants, puis essorées fortement entre 2 feuilles de papier filtre très propres. Elles étaient alors immédiatement tendues sur le cadre de la cuve. Cette méthode nous a donné de bien meilleurs résultats que celle consistant à laisser les bandes baignées par leurs deux extrémités dans le tampon jusqu'à totale imprégnation par capillarité ; nous avons essayé également de faire passer le courant électrique pendant 1 heure dans les bandes humides et plongeant dans le tampon par leurs extrémités. Dans les deux cas, la trop grande quantité de liquide

entraînait la diffusion des petits volumes de sérum ou d'urine posés sur le papier pour l'électrophorèse.

Il importe également que les bandes soient bien tendues et soient bien parallèles au bord de la cuve afin que la migration protéique se fasse suivant l'axe de la cuve.

b) Le sérum ou l'urine était déposé linéairement par absorption capillaire par le papier humide sur une ligne de départ tracée au crayon. Le volume utilisé fut toujours de 20 mm^3 pour les protidogrammes et de 80 mm^3 pour les lipidogrammes ou glucidogrammes. Nous nous arrêtons à 5 mm. des bords pour éviter la fuite des protéines le long des bords de la bande de papier. Le sérum fut toujours dilué au demi dans le tampon avant d'être déposé sur le papier.

c) La durée de l'électrophorèse fut toujours de 6 heures, la force électromotrice de 380 volts. L'intensité est évidemment variable, la bande de papier s'échauffant par effet Joule avec diminution de la résistance. Ceci entraîne une augmentation de l'intensité, le voltage étant maintenu stable. Les variations de l'intensité sont facilement mesurées avec un ampèremètre monté en série. Dans notre cas, il est à noter que les variations de l'intensité étaient relativement importantes, par suite de l'électrophorèse simultanée de souvent 6 bandes à la fois.

d) L'électrophorèse du sérum et de l'urine d'un malade était conduites toujours conjointement, chacun des échantillons sérique et urinaire étant placé *dans la même cuve au cours d'une même électrophorèse*. En effet, nous avons noté d'une cuve à l'autre, en nous servant des deux simultanément, un décalage constant dans la migration, de l'ordre de 2 à 3 cm. La bande du sérum était placée au centre, avec de chaque côté une bande pour l'urine, soit 3 bandes pour un malade.

Séchage et fixation des bandes :

A la fin de l'électrophorèse, les bandes étaient enlevées en évitant de faire couler le tampon sur elles. Le séchage était effectué dans une étuve à 80° , les bandes pendant verticalement. La durée de l'opération était d'environ $1/2$ heure.

Coloration :

Les techniques de coloration sont nombreuses et variables; mais les colorations idéales sont celles effectuées avec les colorants et les méthodes histologiques.

1° TECHNIQUES DES COLORATIONS :

a) *Protidogramme* : coloration avec le soluté alcoolique de bleu de bromophénol à 0,1 % dans l'alcool à 95° saturé de chlorure mercurique (environ 65 gr. pour 200 cm³). Les bandes étaient suspendues dans le colorant pendant 12 minutes, puis rincées à l'eau ordinaire dans un grand cristalliseur dont on renouvelait l'eau jusqu'à ce qu'elles restent incolores.

b) *Lipidogramme* : Nous utilisâmes la technique au Soudan Noir décrite par Rosenberg [11]), puis reprise par Raynaud et Benhammou [12]. Nous faisons une solution de Soudan Noir dans l'alcool à 60° en agitant constamment au B.M. jusqu'à ébullition, 500 cm³ d'alcool renfermant 2 gr. de Soudan Noir. L'ébullition était maintenue 2 à 3 minutes et on laissait refroidir le flacon bouché à la température ordinaire. Filtration lorsque le liquide était froid au moins deux fois.

Les bandes fixées par la chaleur étaient plongées 3 heures dans cette solution dans des bacs allongés en verre fermés par une plaque de verre. Ensuite, elles étaient retirées et plongées dans des bains successifs d'alcool à 60° jusqu'à ce que le fond du papier soit le plus clair possible. Chacun de ces bains de lavage servait les fois suivantes à dégrossir les colorations, le premier et le dernier bain étant chaque fois remplacés. A la fin, les bandes séchaient à l'air libre à la température ordinaire.

c) *Glucidogrammes* : Nous avons suivi, en la modifiant, la technique de Benhammou [8] et des différents auteurs américains traitant de la question.

— Oxydation des glucoprotéines : Après électrophorèse et séchage à 80°, on procédait à une oxydation des glucoprotéines avec une solution aqueuse à 1 % de périodate de potassium additionnée de 1 cm³ d'acide nitrique à 70 %. La dissolution de ce corps, difficile à froid, se fait plus facilement à une tempéra-

ture de 40° en agitant. La bande était plongée 8 minutes dans la solution précédente.

— Destruction de l'excès de périodate : par une solution à 5 % de iodure de potassium additionné de 2 cm³ de ClH concentré. On laisse les bandes pendant 4 à 5 minutes ; l'iode est déplacé et la bande se colore en brun.

— Destruction de l'excès d'iode par l'hypossulfite de sodium : on fait tremper les bandes précédentes dans une solution d'hypossulfite à 5 % jusqu'à ce que toute coloration brune ait disparue, c'est-à-dire environ pendant 3 à 4 minutes.

— Lavage par agitation dans de l'eau ordinaire pendant 5 à 6 minutes pour éliminer l'excès d'hypossulfite.

— Coloration par le réactif de Schiff :

Le réactif est préparé à partir de la fuschine « Diamant » R.A.L. Kulhmann. Avec la fuschine basique pour colorant bactériologique les résultats sont mauvais. On dissout 4 gr. de fuschine Diamant dans 500 cm³ d'eau en chauffant modérément pour activer la dissolution. On ajoute par petites quantités 200 cm³ de solution bissulfitique du Codex en agitant chaque fois ; la décoloration commence déjà à se manifester dès l'addition de ce réactif. On ajoute alors de l'acide chlorydrique Codex à 35,5 % par petites fractions de 4 à 5 cm³ en agitant chaque fois. La couleur rouge foncée du début s'atténue et vire au brun clair. On s'arrête lorsque la coloration reste stable et on complète à 1.000 cm³ avec de l'eau distillée. On peut se servir de ce réactif tout de suite, mais il est préférable d'attendre 2 à 3 jours. Un léger précipité apparaît souvent, mais il vaut mieux ne pas filtrer, comme le fait remarquer Fouillouze dans son traité de travaux pratiques de Chimie pharmaceutique [9], sinon on diminue la sensibilité du réactif.

Les bandes après lavage à l'eau sont plongées dans ce réactif pendant un temps variable, mais qui n'excède pas dix minutes. Ce temps est très important à respecter, sinon on risque d'avoir par la suite un fond de coloration trop prononcé. Il faut suivre à travers le couvercle de la cuve l'apparition de la coloration des fractions. Dès que l'on juge qu'elle ne varie plus (le plus souvent au bout de 6 à 7 minutes), on les retire et on passe au temps suivant.

— Rinçage des bandes dans de l'eau bissulfitique : pour éliminer l'excès de réactif de Schiff. On se sert de bissulfite de

sodium dilué au 1/5 comme pour le réactif et additionné de 20 cm³ de ClH concentré par litre. Les bandes sont trempées pendant 10 à 15 minutes dans ce réactif en les agitant. L'opération doit être surveillée de près afin que la décoloration n'atteigne pas les fractions glucoprotéines colorées.

— Séchage à l'air et à l'abri de la lumière.

2° DISCUSSION :

Coloration des protéines par le bleu de bromophénol :

— En tant que coloration seule, cette méthode est très simple, très facile et a un avantage de rapidité incontestable. Son inconvénient est la fixation du colorant différente suivant les fractions protéiques, et ceci dans de larges proportions, de sorte que si l'on compare une bande d'électrophorèse colorée au bleu de bromophénol avec une bande colorée à l'amido schwartz, les pourcentages de chaque fraction sont loin d'être semblables. Ceci implique de se reporter pour la coloration par le bleu de bromophénol à des moyennes de pourcentages des différentes fractions établies à partir d'un lot de sujets sains.

— Les fractions obtenues doivent être parallèles entre elles. Dans la cuve de Jouan que nous utilisons, nous pouvions placer 3 bandes de papier permettant de faire 3 électrophorèses simultanées. Les fractions de la bande du milieu étaient la plupart du temps bien rectilignes et parallèles, la sérum albumine ayant pratiquement seule la forme d'un léger arc de cercle dont les extrémités étaient symétriques pour l'axe de la bande. Par contre, les fractions des 2 autres bandes encadrant la précédente, présentaient souvent une concavité tournée vers la ligne de départ et d'autant plus accentuée qu'elles en étaient plus éloignées. Cette concavité n'était pas symétrique pour l'axe de la bande et était toujours plus marquée vers le bord externe de sorte que si on considérait la même fraction sur les 3 bandes on s'apercevait qu'elle constituait un morceau d'arc de cercle ayant pour centre la ligne de départ et pour rayon la distance de la ligne de départ à la fraction considérée.

Coloration des lipides : Cette coloration est beaucoup plus délicate.

— Le choix du réactif est primordial; nous avons essayé différents colorants :

- Soudan III employé par Fasoli [13]. On obtient des fractions colorées en rouge avec une coloration de fond relativement faible; mais la technique est longue et jamais les colorations sont très intenses.
- Le bleu BZL fabriqué par CIBA ; il est dissous dans l'alcool en solution concentrée. Les colorations obtenues sont également d'intensité moyenne, mais la durée de coloration est considérablement raccourcie, de l'ordre de celle nécessaire pour le Soudan Noir.
- Le Soudan Noir : de tous les colorants, le Soudan se révéla le meilleur. Toutefois, c'est un réactif de fabrication délicate et de conservation assez courte ; souvent, en effet, il précipite partiellement sur les bandes en cours de coloration sous forme de dépôts dont il est difficile de se débarrasser. Pour éviter la formation de ces précipités, Swahn recommande de faire bouillir pendant 20 minutes le Soudan Noir dans l'alcool; à la surface du liquide apparaît une masse rougeâtre que l'on élimine par filtration. En fait, en suivant cette technique, on obtient un colorant beaucoup plus faible. Aussi vaut-il mieux filtrer le réactif avant chaque emploi.

Nous avons essayé également la méthode de Reynaud de lavage des bandes avec de l'alcool enfermant en dissolution de la laque afin d'empêcher la diffusion du colorant lors de l'imprégnation avec l'huile de paraffine. Nous avons trouvé les mêmes résultats qu'avec l'emploi de l'alcool seul, et l'huile de paraffine entraîne aussi une importante diffusion du colorant, malgré l'emploi de la gomme laque.

— L'importance pratique de ce mode de coloration fut assez restreint pour nous. Seule la coloration électrophorétique sérique fut facilement réalisée. Nous avons trouvé la répartition habituelle des lipoprotéines dans les différentes fractions [36], compte tenu des variations pathologiques que nous envisagerons plus loin. Par contre, dans l'urine, dans la très grande majorité des cas, les colorations de lipo protéine urinaire se sont

révélées pratiquement impossibles. Les bandes urinaires d'électrophorèse, coupées en deux longitudinalement et colorée pour une partie par le noir soudan et pour l'autre par le bleu de bromophénol, ne montraient que des traces de lipoprotéines, alors que les fractions protéiques se révélaient bien au bleu de bromophénol.

Deux hypothèses peuvent être avancées pour expliquer ce fait :

— La petite quantité de lipides présente normalement dans la prise d'essai de l'urine : en effet pour un lipidogramme sérique normal, on part de 80 mm³ de sérum non dilué qui avait un taux de protéines et de lipoprotéines de l'ordre de 70 gr. environ ; pour l'urine, on part également de 80 mm³, mais après concentration le taux urinaire de protéines et de lipoprotéines dépassait rarement 20 gr. d'où une faible teneur par rapport à la teneur sérique. Seules les urines ayant d'emblée une forte protéinurie montrait des fractions colorées au Noir Soudan plus nettes, mais sans jamais atteindre l'intensité des colorations sériques. Nous eûmes une fois une malade ayant un taux d'albumine de 26 gr. au départ, donc ne nécessitant pas de concentration. Le lipidogramme urinaire se révéla peu intense alors que le protéinogramme était très net.

— La dénaturation partielle des lipoprotéines avec destruction des cénapses au cours de la concentration : les lipoprotéines sont des corps fragiles ; il est possible qu'au cours de la concentration sous vide une partie des lipides se soit séparées des protéines.

Coloration des glucoprotéines :

Cette technique est très discutable; en effet, elle repose sur une propriété générale de l'acide périodique : l'oxydation des corps ayant sur 2 Carbones contigus une fonction alcool I ou II et une fonction amine, ou 2 fonctions alcools I ou II, chacune de ces fonctions se trouvant sur un atome de carbone différent. Il y a formation, suivant les cas, soit de 2 fonctions aldéhydiques, soit d'une fonction aldéhydique et d'une fonction acide avec départ d'ammoniaque. Ces fonctions aldéhydiques réductrices ainsi formées réagissent sur le réactif de Schiff.

Les glucides, du fait de leur constitution chimique, sont donc tout particulièrement aptes à subir l'action de l'acide périodique ; mais à côté, existent de nombreux autres corps qui, eux aussi renferment des fonctions chimiques disposées de telle manière que l'acide périodique peut réagir. Autrement dit, l'action de l'acide périodique n'est nullement spécifique des sucres. Ceci explique que toutes les fractions soient plus ou moins colorées. Tout au plus la coloration par le réactif de Schiff donne une vue d'ensemble de chaque fraction. Non seulement les protéines peuvent être attaquées, mais aussi des polymères glucidiques comme la cellulose, d'où le fond rose de la bande de papier. Les glucides sont les plus réactifs à l'acide périodique, mais si on prolonge trop les temps de réaction, on oxyde d'autres constituants : protéines, ac. aminés, ou même le support de l'électrophorèse, d'où la nécessité de minuter exactement les opérations de décolorations et coloration.

Ces restrictions étant faites du point de vue chimique, l'intensité des colorations dans le sérum variait suivant les fractions ; toute une série de sujets témoins furent pris après vérification de leur vitesse de sédimentation qui est actuellement considérée comme étant régie par les alpha-2 globulines. Les fractions fortement colorées se révélèrent être essentiellement les alpha-2 globulines, puis les bêta globulines ; les alpha-1 étaient bien moins nettes ; enfin le sérum albumine et les gamma globulines ne montraient qu'une faible coloration. Dans les urines, et contrairement au lipidogramme, le glucidogramme fut souvent très net, avec dans l'ensemble une image électrophorétique parallèle à celle des protidogrammes urinaires.

En conclusion, il semblerait que cette méthode ne devrait être employée qu'avec circonspection et qu'une étude chimique approfondie des réactions serait à pratiquer pour préciser les modalités de coloration des glucoprotéines.

Lecture des bandes après coloration :

Les bandes étaient lues avec un lecteur à cellule photo-électrique, millimètre par millimètre. La densité optique était portée en ordonnée sur du papier millimétrique et la position des fractions en abscisse, la ligne de départ de la migration

électrophorétique étant toujours placée à une distance fixe de l'origine prise arbitrairement égale à 150 mm.

Pour les protidogrammes colorés au bleu de bromophénol, aucune difficulté particulière ne se présente.

Pour les lipidogrammes, une imprégnation préalable à l'huile de paraffine était effectuée ; les bandes étaient ensuite essorées entre 2 feuilles de papier filtre très propres. La lecture se faisait aussitôt pour éviter la diffusion du colorant.

Les glucidogrammes étaient photométrés directement sans précaution particulière. Du fait de la faible sensibilité de la cellule dans le rouge, les courbes obtenues étaient assez applaties. Aussi avons-nous essayé de photométrer dans le vert, couleur complémentaire du rouge. Nous interposions entre la bande et le faisceau lumineux un filtre Wratten vert. Le résultat ne fut pas meilleur, l'écran surajouté absorbant une partie de la lumière.

Identification des constituants :

Nous avons admis suivant les données de Tisélius [16, 17], que l'on rencontrait les fractions suivantes à partir de la ligne de départ : les globulines gamma, bêta, alpha-2, alpha-1, la sérum-albumine, plus le fibrinogène qui apparaît toujours très nettement en une fraction fixe située entre les bêta et gamma globulines lorsqu'on opère sur le plasma. Ces différentes fractions sont toujours nettement individualisées et nous n'avons jamais voulu identifier de sous-groupes.

Nous nous sommes servis de fractions témoins pour pouvoir mieux les individualiser : sérum albumine très purifiée provenant des Etats-Unis et gamma globulines fabriquées par l'Institut Mérieux, par le procédé de fractionnement de Cohn. Cette gamma globulines renferme en outre de petites quantités de bêta globulines. Ces différentes fractions se sont toujours trouvées aux mêmes emplacements que les fractions correspondantes des sérums employés. Pour l'urine, le résultat fut le même, la plupart du temps, les fractions urinaires se superposant aux fractions du sérum du même malade si l'électrophorèse était pratiquée simultanément. De plus, il faut noter,

après coloration au bleu de bromophénol, l'aspect presque constant de certaines fractions des sujets normaux, aspect qui aidera à les identifier. Nous mettons à part la sérum albumine toujours facilement reconnaissable. Les bêta globulines, aussi bien dans le sérum que dans l'urine, se présente presque toujours sous la forme d'une bande très nette, étroite, rectiligne, à bords bien dessinés. Les gamma globulines, par contre, se présentent le plus souvent sous forme d'une bande large, homogène, relativement peu colorée, dont les limites s'estompent progressivement sans démarcation extrêmement tranchée.

Décomposition des bandes en courbes de Gauss :

Devant les difficultés rencontrées dans la coloration et la lecture des lipidogrammes et glucidogrammes sériques et dans la réalisation des mêmes électrophorégrammes urinaires, nous n'avons décomposé en courbe de Gauss que les protidogrammes sérique et urinaire. Nous nous sommes servis des courbes publiées par Wiedmann [14]. Photographiées sur plaque de verre, elles étaient projetées optiquement sur le diagramme d'électrophorèse, ce qui permettait de les agrandir ou de les diminuer de manière homothétique. Cette projection demande de grandes précautions pour que la décomposition corresponde à la réalité. En opérant sans entraînement, il est très facile d'augmenter ou de diminuer artificiellement le pourcentage de telle ou telle fraction, ou même de créer des fractions inexistantes. Devon [15] ayant présenté une série de courbes électrophorétiques à 9 personnes différentes, a obtenu pour chaque électrophorèse des décompositions aboutissant à l'isolement de 4 à plus de 10 fractions !... Nous nous sommes entraînés pendant plusieurs semaines sur une série de 20 diagrammes avant de pouvoir faire des projections pas trop incorrectes et chacune de ces décompositions d'essais a dû être recommencée au moins 5 fois. Arrivant à la fin de notre travail de thèse, nous avons dû encore revoir la décomposition de certaines fractions, en particulier les bêta et les gamma globulines de plusieurs de nos courbes.

Toutefois, après avoir effectué de nombreuses décompositions en série, un certain nombre de remarques guidant la

marche à suivre peuvent être faites ; elles sont empiriques, mais peuvent être utiles à connaître. Elles se sont dégagées des diagrammes où les fractions, très bien individualisées, ne laissaient aucun doute sur la décomposition ; dans ces cas, la répétition des mêmes phénomènes est frappante : position des points d'intersection des courbes de Gauss, position relative entre eux des pieds de ces courbes, situation d'un pied d'une courbe par rapport au sommet de la courbe voisine, etc... En appliquant ces considérations au diagramme passable ou médiocre, on s'aperçoit que la décomposition devient alors facile à établir et que les courbes projetées le sont aux emplacements réels des fractions visibles par transparence sur la bande colorée.

Ces remarques sont les suivantes :

1° Il ne faut pas vouloir faire correspondre une fraction spéciale à chaque irrégularité de la courbe. On doit toujours opérer en se référant à la bande d'électrophorèse qui laisse voir par transparence les différentes fractions colorées. Souvent, nous avons dû décomposer une fraction en 2 courbes, mais jamais nous n'avons identifié ces courbes secondaires à une fraction homogène ; nous n'avons tenu compte que de leur somme que nous rapportions à telle ou telle fraction.

2° Il faut partir de la sérum albumine qui est toujours très bien individualisée et qui va servir de courbe directrice pour le reste de la décomposition.

3° Il faut choisir la courbe de Gauss se superposant le mieux avec la fraction correspondante du diagramme d'électrophorèse, en faisant coïncider sa base avec la ligne des abscisses et son sommet avec le sommet du pic du diagramme. En fait, ceci est un idéal rarement atteint. En effet, pour certaines fractions, on ne fera pas volontairement coïncider le sommet d'un pic avec celui de la courbe de Gauss ; celui-ci est abaissé pour éviter que la courbe de Gauss n'empiète trop sur la fraction voisine, ce qui a pour résultat de « gonfler » artificiellement une fraction au dépens de la suivante. Le choix de la courbe est déterminé par les remarques suivantes.

4° Deux courbes de Gauss successives doivent obligatoirement se couper, et en se coupant, déterminer deux surfaces de

même superficie : l'une au-dessus du point d'intersection et située entre les deux courbes de Gauss et le diagramme d'électrophorèse ; l'autre au-dessous du point d'intersection entre les deux courbes de Gauss et la ligne des abscisses. En faisant nos décompositions, nous avons remarqué ainsi que ce point d'intersection était pratiquement toujours situé au milieu d'une perpendiculaire à la ligne des abscisses reliant celle-ci au creux séparant deux pics voisins. Cette remarque nous a été très utile ; lorsque sur un diagramme, deux fractions étaient trop rapprochées pour déterminer un creux suffisamment net, nous nous en servions pour déterminer approximativement l'emplacement de la section des deux courbes de Gauss ; nous tenions également grand compte de la bande d'électrophorèse que nous superposions au diagramme et qui nous permettait de mieux situer cette perpendiculaire.

5° Il arrive qu'une courbe de Gauss coupe non seulement celles qui lui sont voisines, mais encore une des suivantes. L'idéal est qu'il n'y ait pas section, mais seulement jonction des deux courbes par leur pied. Ceci évite la création de surfaces supplémentaires qui seront planimétrées trois fois (comme nous le verrons plus loin) et pour lesquelles il faut faire intervenir un facteur de correction. Si la section est obligatoire, nous avons remarqué que si la décomposition était correcte, elle se produisait toujours sous le sommet de la courbe intermédiaire. En partant de cette notion associée aux précédentes, nous avons pu augmenter grandement la facilité de la décomposition.

6° Il faut toujours éviter les courbes de Gauss très étalées qui sectionnent plusieurs autres courbes ; nous les avons systématiquement partagées en plusieurs courbes secondaires en respectant les règles énoncées ci-dessus. Jamais nous n'avons voulu les identifier à des fractions protéiques séparées. Ce problème se pose souvent pour les gammas globulines et quelquefois pour les bêta globulines.

7° Un point délicat est celui de la détermination du pied de la dernière courbe des gamma globulines. La fin du diagramme est bien moins nette que le début ; un léger fond de coloration persiste souvent. Pour y arriver, nous nous référons encore à la bande d'électrophorèse colorée. Nous l'appliquons

sur le diagramme et nous tracions sur ce dernier une ligne verticale à l'axe des abscisses passant le long de la fin de la fraction gamma globuline. Nous projetions alors la courbe de Gauss de manière qu'elle coupe cette ligne en déterminant de part et d'autre deux surfaces égales. Le point d'intersection était encore pratiquement au milieu de la verticale.

8° Quelquefois, pour avoir la meilleure coïncidence de la courbe théorique avec la courbe réelle, il faut déporter un peu la courbe initiale de la sérum albumine, de sorte que son sommet ne coïncide pas avec celui des diagrammes. Mais dans ces cas, les branches de la courbe de Gauss coupent encore la courbe du diagramme au milieu et les surfaces de l'extérieur du diagramme doivent être égales aux surfaces à l'intérieur.

Planimétrie :

Chaque surface gaussienne était planimétrée avec un planimètre intégrateur de Morin qui donnait directement la surface. Les chiffres obtenus étaient ensuite transformés en pourcentage.

CHAPITRE V

RESULTATS OBTENUS

Expression des résultats :

Après avoir réuni le matériel d'étude des néphropathies, il reste à discuter le point fondamental de l'interprétation des résultats.

Comment utiliser avec le maximum d'exactitude les électrophorèses pratiquées ? Quelles sont les constantes des différentes fractions dans le sérum et l'urine ?

A) PROBLÈME D'ORDRE TECHNIQUE :

1° *Sérum* :

Peut-on admettre que les pourcentages trouvés dans le sérum correspondent aux proportions réelles de chaque fraction ? Pour pouvoir répondre par l'affirmative, il faudrait que le pouvoir fixateur des protéines vis-à-vis des colorants soit uniforme pour toutes les fractions. Dans ces conditions, les variations de la densité optique pour les différentes protéines après coloration seraient proportionnelles à la quantité de protéine présente.

Ces conditions sont malheureusement rarement remplies. De nombreux auteurs se sont attachés à cette question et ont étudié la fixation de différents colorants : bleu de bromophénol [18, 19], amido Schwartz [20], azocarmin B [21]. En fait, il s'agit le plus souvent des 2^{mes} colorants, étant donné leur fréquence d'utilisation.

L'amido Schwartz aurait la propriété de se fixer le plus uniformément. Seules les bêta globulines nécessiteraient un coefficient de correction de 1,25 [22].

Le bleu de bromophénol, par contre, présente de très grandes variations suivant les fractions envisagées et suivant la quantité de protéines en présence. Les auteurs précédents se sont aperçus que la fixation du colorant est à peu près proportionnelle, pour chaque fraction respective, dans une zone de 20 micro-gr. à 200 micro-gr. de protéines. Par contre, d'une fraction à l'autre, le coefficient varie dans de larges proportions. On a donné les chiffres suivants comme facteurs correctifs [23, 24] : sérum albumine : 1 (par définition); alpha-1 globuline : 2,36 ; alpha-2 globuline : 2,09 ; bêta globulines : 2,20 ; gamma globulines : 1,3. Nous-mêmes avons essayé de mesurer la fixation du colorant sur les différentes fractions ; notre but était de calculer les quantités de chaque fraction en les précipitant par des solutions salines à différents degrés de concentration, puis en les dosant par la méthode de Gornall. Connaissant les pourcentages de chaque fraction après coloration au bleu de bromophénol, on en aurait déduit le coefficient de correction à appliquer. Nous ne pûmes arriver à un résultat concluant, car la précipitation fractionnée n'était pas toujours parfaite, de sorte que la somme des fractions isolées se trouvait être supérieure à la quantité de protéines totales trouvées au départ. Cela provenait de la difficulté de séparer la sérum albumine de l'alpha-1 globuline. Nous avons essayé de transformer en pourcentages réels les pourcentages apparents trouvés avec notre méthode de coloration. Connaissant la valeur des pourcentages des différentes fractions protéiques du sérum des sujets normaux avec la méthode de Tiselius (sérum albumine : 60 α_1 globuline : 6,25, α_2 globulines : 9,7, β globulines : 11,25, γ globulines : 13), et connaissant les pourcentages trouvés après coloration du bleu de bromophénol, on en déduit facilement un coefficient de multiplication pour transformer le pourcentage apparent en pourcentage réel des différentes fractions.

Sérum albumine	1,85
α_1 globuline	0,46
α_2 —	0,74
β —	0,69
γ —	0,51

Pour pouvoir nous rendre compte des variations pathologiques des pourcentages, nous avons dû recourir à une

série de témoins nous fournissant les pourcentages des sujets normaux. Nous avons pris 19 sujets recrutés parmi les externes, infirmières et laborantines du service ; nous avons vérifié chaque fois auparavant leur vitesse de sédimentation. Nous nous sommes ainsi aperçus du rôle important des règles qui entraînaient simultanément une augmentation de la vitesse de sédimentation et des alpha-2 globulines. Les résultats sont donnés dans le tableau ci-dessous. On constate que dans 4 cas, la fraction bêta a dû être dédoublée, mais que l'addition de ces sous-fractions aboutit au même résultat que dans les cas où une seule courbe de Gauss suffisait à la représenter. De même les gamma globulines ont dû être représentées par 1 ou 2 courbes en cloche ; les résultats obtenus sont également très proches. Ces résultats ne sont valables que pour la décomposition par projection gaussienne. Si on se contente de la technique par abaissement des perpendiculaires, les pourcentages normaux seront différents, tout en étant moins justes, étant donné que le creux entre 2 pics successifs n'est pas toujours très net.

2° Urine :

Pour l'urine, le problème se révélait infiniment plus complexe étant donné le très faible taux d'albumine dans l'urine normale. Deux auteurs américains se sont attachés à ce problème [4]. Ils ont trouvé par voie chimique une protéinurie normale d'environ 50 à 60 mmg. par 24 heures, c'est-à-dire à la limite de la détection par la méthode à l'anneau de Barral. Pour obtenir une électrophorèse convenable, ils ont donc été obligés de concentrer fortement les urines. Après avoir essayé différents procédés, ils ont retenu la précipitation à basse température par l'alcool, suivie d'une dialyse contre l'eau, pour éliminer les sels, et d'une redissolution dans un tampon véronal/véronal sodique à une concentration permettant l'électrophorèse. Ils ont trouvé une inversion normale du rapport S/G égal à 0,65. Rigas et Hiller [3] avaient trouvé dans une étude analogue un chiffre très voisin : 0,51. De plus, existerait après les gamma globulines une fraction protidique delta de nature mal connue. Cette fraction n'a pas été retrouvée au cours de nos électrophorèses. Les pourcentages des différentes fractions urinaires établis par les auteurs américains sont reproduits dans le tableau ci-dessous (électrophorèse en cuve) :

Noms	Albumine	Globulines					
		Alpha 1	Alpha 2	Bêta		Gamma	
				2 fractions	1 fraction	2 fractions	1 fraction
Cr	33,6	9,6	13,6		18,3		24,7
Mo	31,2	18,1	12,5		17,4		21
Ch	33,7	14,6	11,3				
Gi	31	9,6	15,9	4,8		13,2	
Mo	31,3	13,7	13,9	8		9,9	
Du	32	20	12,3	11,1		9,5	
Bi	34	15,4	11,3	7,4		16,7	
La	28,4	13,6	13,5	7,9	13,7	12,2	33,6
CH	32,8	13	11,1	7,0		9,8	
Jo	31,6	11,5	15,6	7,4		15,6	
Br	31,9	12,8	9,8	3,5		12,4	
Al	32,8	12,7	12,7	3,3		13,1	
Br	33,5	12,5	14,1	8,4		7,9	
Ja	32,7	10,0	14,5		15,9	10,0	
Al	37,6	12,8	12,8	6,1		15,9	
Be	33,6	13,6	11,2	7,7		11,3	
Co	34,4	11,9	15,2	4,6		12,9	
				5,5		10,5	
Moyenne partielle en %				16,07	16,32	24,07	26,43
Moyenne générale en %	32,4	13,4	13	16,2		25,2	

Moyennes des pourcentages des fractions protéiques chez 17 sujets normaux adultes

	Alb.	Alpha glob.	Bêta glob.	Gamma glob.	S/G
Sujets	42,58	37,31	11,24	8,86	0,74
	32,13	46,91	9,19	11,76	0,37
	53,99	31,69	7,51	6,80	1,20
	39,74	42,28	11,47	6,51	0,66
	46,22	31,45	15,13	7,20	0,86
	40,30	37,73	14,20	7,77	0,68
	35,83	45,59	12,00	6,57	0,56
Moyenne ..	39,13	40,21	12,21	8,11	0,65

B) DIFFÉRENTES MODALITÉS D'INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS TROUVÉS :

Après la mise en œuvre des techniques énoncées plus haut (dosage des protéines sériques et urinaires, électrophorèse systématique, etc...), toute une série de résultats furent obtenus. Plusieurs manières d'explorer ces résultats pouvaient être utilisées.

I. — *Comparaison qualitative des bandes d'électrophorèse :*

moyen le plus facile, il peut donner des indications, mais est sans précision. Il oriente un diagnostic ou même un pronostic comme nous le verrons dans un prochain chapitre.

II. — *Rapport quantitatif :*

— des protéines totales sériques et urinaires : après dosage par voie chimique ;

— des différentes fractions sériques et urinaires : on établit le pourcentage des fractions et on calcule leur rapport, soit séparément dans le sérum ou l'urine, soit entre le sérum et l'urine. On note ensuite les variations que l'on trouve entre les différents groupes de néphropathies. On peut utiliser une méthode chimique et on établit le rapport habituel S/G qui variera suivant les techniques employées, certaines précipitant les alpha-1 globulines avec la sérum albumine, les autres précipitant électivement toutes les globulines ; dans le premier cas,

le rapport est autour de 1.5, dans le deuxième cas, il est voisin de 2.

III. — *Calcul des clearances des différentes fractions protéiques :*

a) Ce mode d'expression n'est pas habituellement employé. Nous avons essayé d'appliquer les méthodes classiques de mesure des clearances de produits comme l'hyposulfite de sodium ou le P.A.H. à la mesure des clearances des différentes fractions protéiques passant dans l'urine.

b) Au premier abord, il n'y a pas d'opposition de principe à la mesure de ces clearances. Par définition, la clearance d'une substance quelconque est le volume de plasma que le rein débarrasse de cette substance en une minute. On la calculera

par l'application de la formule classique : $C = \frac{UV}{TP}$ où U =

teneur urinaire du produit considéré, P = sa teneur plasmatique, V = volume de l'urine émise pendant la durée de la clearance, T = le temps de l'épreuve. Dans le cas des protéines, U est la teneur en albumine de l'échantillon moyen des 24 heures. Comme les protéines qui passent dans l'urine sont les protéines sériques, il est normal de vouloir calculer la clearance de ces protéines réparties en différentes fractions isolées par électrophorèse. En effet, quand on parle de clearance, on pense habituellement à la clearance d'un corps exogène introduit artificiellement dans l'organisme, comme l'hyposulfite par exemple ; mais on peut également calculer la clearance d'une substance endogène existant à l'état normal dans le sang et passant dans l'urine. Les avantages sont nombreux : taux constant dans le sang, absence de la nécessité d'injection, etc... La clearance des protéines est analogue, dans sa réalisation, à la clearance de la créatinine, avec seulement des complications supplémentaires dues à la répartition des protéines en plusieurs fractions et à la nécessité de passer par les électrophorèses pour pouvoir les établir.

c) Des précisions surtout techniques doivent être maintenant apportées afin de pouvoir juger les résultats obtenus. Sur le plan pratique, nous avons vu plus haut que nous nous sommes

efforcés de standardiser les manipulations afin de diminuer le plus possible les causes d'erreurs tant dans la pratique de l'électrophorèse elle-même que dans les opérations suivantes (coloration, décomposition en courbe de Gauss, etc...). Pour le calcul proprement dit des clearances, les valeurs U et P de la formule sont obtenues en connaissant d'une part le taux d'albumine urinaire moyen des 24 heures et le taux plasmatique des protéines et d'autre part la surface correspondante de chaque fraction sur la courbe. Du fait du rapport U/P on n'a pas à tenir compte d'un des inconvénients inhérents à la coloration par le bleu de bromophénol : la fixation variable du colorant suivant les fractions. A valeur égale, deux fractions protéiques différentes fixent le colorant avec une intensité différente ; on obtient alors apparemment pour ces deux fractions deux valeurs différentes si on ne tient compte que du pourcentage. Cette erreur disparaît en faisant le rapport U/P. Ceci suppose que les fractions urinaires et plasmatiques soient identiques et fixent pareillement le colorant.

d) Des considérations d'ordre physiologique doivent aussi être envisagées. En effet, les affections rénales étudiées ici se traduisent par une atteinte glomérulaire et tubulaire, mais les néphrons ne sont pas tous atteints et, à côté de néphrons malades, d'autres sont intacts et gardent entièrement leur fonction. Ceci retentit sur les clearances trouvées qui, pour une même fraction, sont différentes d'un groupe d'affection à l'autre. Si on pouvait tenir compte de la masse rénale en fonctionnement, les chiffres trouvés pour les différentes fractions devraient être très proches, quelle que soit l'étiologie ; ceci explique les différences entre néphrose lipidique et néphrite. Par ailleurs, on n'a pas tenu compte de la réabsorption protéinique tubulaire. En fait, elle n'est qu'un facteur peu important ; le tube est vite saturé et dans les néphroses, cette réabsorption est très faible. De même, on n'a pas tenu compte de la filtration de l'eau.

e) Nous avons vu par ailleurs que des auteurs américains [7] avaient réussi à calculer la quantité d'albumine urinaire émise normalement par 24 heures. Ils ont calculé ainsi le pourcentage respectif de chaque fraction. Etant donné les petites quantités d'albumine au départ, il est possible que les résultats

trouvés soient entachés d'un certain pourcentage d'erreur ; en tout cas, ils nous donnent une indication pour apprécier les variations pathologiques des clearances dans les différentes affections rénales.

En effet, à partir des teneurs théoriques normales des protéines dans le sang et dans l'urine et en prenant une diurèse théorique de 1,500 litre, on peut avoir un ordre de grandeur des clearances des différentes fractions en se servant de la composition des urines normales indiquées par les auteurs américains. En admettant le chiffre d'élimination urinaire des auteurs américains, soit 60 mmg. en 24 heures, nous obtenons les teneurs ci-dessous en mmg. $\frac{\%}{100}$ pour chaque fraction ; il est à noter que les pourcentages des fractions alpha-1 et alpha-2 sont donnés en bloc ; la teneur sera donc calculée pour l'ensemble :

Sérum-albumine	27,4
Alpha globulines	28,1
Bêta globuline	8,5
Gamma globuline	5,7

Pour les protéines sériques, en prenant une valeur théorique de 75 gr. $\frac{\%}{100}$, nous avons les teneurs suivantes en gr. $\frac{\%}{100}$ pour chaque fraction :

Sérum-albumine	42,4
Alpha globuline	11,9
Bêta globuline	10,0
Gamma globuline	10,8

Avec une diurèse de 1,500 litre, les clearances moyennes de chaque fraction par minute seront données par la formule classique : $C = UV/P \times 1.440$; en faisant les calculs, on trouve :

Clear. sérum-albumine	0,0000007
Clear. alpha globuline	0,0000030
Clear. bêta globuline	0,0000009
Clear. gamma globuline	0,0000006

Il faut noter que la clearance des alpha globulines est malheureusement une clearance globale de sorte que le chiffre trouvé n'a que peu de valeur. On remarque également que la clearance des gamma globulines à l'état physiologique est la plus faible. Ce résultat est parallèle à celui trouvé dans les affections pathologiques où les gamma globulines ont le plus souvent la valeur la plus faible de toutes les clearances.

Classification des néphropathies :

Dans le service du P^r Ravault, nous avons trouvé de nombreux cas de néphropathie aiguë ou chronique ayant un taux d'albumine suffisant pour pratiquer une électrophorèse urinaire.

1° EXAMENS BIOLOGIQUES

UTILISÉS AU COURS DES AFFECTIONS RÉNALES : .

La Classification clinique des types de maladies rénales repose également sur un certain nombre de tests biologiques servant en particulier à déceler l'installation de l'insuffisance rénale. Il semble que chacun de ces groupes présente un ensemble de caractères biologiques particuliers qui lui créent une entité supplémentaire se juxtaposant à l'entité clinique. Normalement, le bilan biologique de l'exploration rénale comprend une série d'exploration urinaire seule, sanguine seule et mixte.

Exploration urinaire :

Etude de l'urine émise normalement :

Mesure du volume des 24 heures, sa couleur.

Dosage de l'albumine.

Etude cytologique du sédiment urinaire.

Etude de l'urine émise dans certaines conditions :

Epreuves classiques :

Epreuve de dilution et de concentration de Volhard.

Epreuve de perméabilité rénale : variables, mais souvent à la P.S.P.

Epreuves modernes :

Numérations des hématies dans l'urine : Cet examen créé par Addis est simple, mais nécessite une exécution parfaite pour donner des résultats valables. L'exposé de la technique et l'interprétation des résultats en ont été faits de manière détaillée dans un article paru dans le cycle des conférences de perfectionnement des anciens internes en Pharmacie des Hôpitaux de Lyon [26]. Cet examen permet de déceler des atteintes rénales au début, bien avant l'installation des signes cliniques ; de plus, il permet de suivre dans le temps l'évolution de la maladie et de dépister précocement toute nouvelle rechute apparaissant sur un fond de chronicité.

Recherche des Streptocoques du groupe A de Lancefield :
Epreuve toute nouvelle, elle consiste à mettre en évidence par des méthodes bactériologiques et sérologiques le Streptocoque responsable de l'atteinte rénale par suite de la réaction classique Ag-Ac. Peu développée encore actuellement, elle semble appelée à rendre de grands services par la suite.

Exploration sanguine :

Prise de la tension artérielle

Dosage de l'urée.

Dosage des protéines avec rapport S/G.

Dosage du cholestérol et des lipides.

Bilan ionique complet du Cl, Na, K, RA.

Les variations du taux de l'acide urique ne sont plus guère envisagées ; le dosage de la créatinine n'est fait actuellement que dans le cadre de la clearance.

Exploration portant à la fois sur le sang et l'urine :

- a) Elles sont formées essentiellement par l'ensemble des épreuves fines constituant des clearances rénales, la clearance étant le volume de sang que le rein peut débarrasser de la substance étudiée en une minute. Toute altération rénale se manifesterait par une baisse de ce volume. Cette diminution apparaît très tôt, souvent avant l'apparition des signes cliniques. La constante d'Ambard, véritable clearance de l'urée, peut être considérée comme l'ancêtre des clearances ; pratiquement, elle est abandonnée pour des épreuves plus modernes étudiant soit la fonction glomérulaire, soit la fonction tubulaire par suite de l'élimination presque spécifique du produit étudié par la partie correspondante du tube urinifère. Parmi les clearances glomérulaires, il faut signaler les clearances protidiques. Nous avons employé systématiquement ces dernières dans les différents groupes d'affection rénale que nous avons examinées.
- b) L'électrophorèse comparée du sérum et de l'urine avec le calcul des pourcentages des fractions isolées après décomposition en courbes de Gauss constitue le deuxième moyen d'investigation moderne portant à la fois sur le sang et l'urine des néphropathies.

2° CLASSIFICATION PAR ELLE-MÊME :

Diverses classifications des néphrites ont été proposées ;

nous avons adopté la classification clinique déjà formulée partiellement par Teissier en 1921 [48].

Nos malades ont ainsi pu être répartis en différents groupes :

- groupe des néphrites aiguës ;
- groupe des néphrites chroniques :
 - sans insuffisance rénale :
 - néphrite albuminurique simple ;
 - néphrite chronique hydropigène ;
 - néphrite hypertensive simple ;
 - avec insuffisance rénale :
 - ce sont les mêmes formes, mais à un degré beaucoup plus avancé ;
- groupe des néphroses ;
- groupe des divers.

3° DISCUSSION CLINIQUE :

Cette classification clinique est la seule qui soit pratique dans notre cas ; une classification anatomique aurait été impossible du fait du petit nombre de vérifications post-mortem pratiquées. A l'intérieur de cette classification clinique, la répartition en groupes nettement individualisés semble pouvoir être acceptée, car elle correspond à des formes cliniques isolées assez bien caractérisées dont les groupements symptomatiques se reconnaissent facilement.

GROUPE DES NÉPHRITES AIGUES :

Ce furent soit des néphrites aiguës vraies post-angineuses classiques, soit des poussées de néphrites subaiguës sur un fond de néphrite chronique à l'occasion d'un nouvel épisode infectieux. *Nous avons éliminé les néphrites toxiques.*

Au point de vue biologique, le syndrome urinaire était caractérisé par la réduction du volume des urines, leur couleur foncée, une albuminurie souvent élevée au début ; à la cytologie, l'absence presque constante de cylindres granuleux remplacés par des cylindres hématiques et avec tout au plus quelques cylindres épithéliaux de la nomenclature d'Addis [26]. La numération des hématies montre un chiffre très élevé pouvant

dépasser plus de 1.000 fois la valeur normale. On peut parfois isoler le Streptocoque responsable dans la gorge. Enfin, il apparaît des syndromes électrophorétiques particuliers qui seront étudiés plus loin.

GROUPE DES NÉPHRITES CHRONIQUES :

Il est dominé par la présence ou l'absence d'insuffisance rénale.

Néphrite albuminurique simple :

Il s'agissait soit d'anciennes néphrites aiguës ayant évoluées vers la cicatrisation avec albuminurie résiduelle soit d'albuminurie primitive isolée sans histoire pathologique préalable, mais avec certainement des lésions rénales.

Il n'existait qu'une albuminurie plus ou moins élevée ; la numération des hématies urinaires montre un chiffre bas ou du moins constant à des examens répétés. Les clearances sont un peu diminuées. Le reste de l'examen biologique est normal.

Néphrite hydropigène :

On avait un tableau clinique de néphrose, mais avec la notion de néphrite antérieure connue ; ce tableau était soit isolé, soit associé à de l'insuffisance rénale.

Dans l'urine : urine claire plus ou moins abondante avec une albuminurie souvent élevée de l'ordre de 3 à 4 gr. ou plus ; la cytologie urinaire ne montre que des cylindres granuleux et des cylindres graisseux ; le chiffre des hématies est supérieur à la normale, mais sans atteindre les chiffres des néphrites aiguës.

Dans le plasma : baisse des protéines totales avec rapport S/G souvent inversé, anomalies lipidiques moins nettes avec augmentation plus ou moins marquée du cholestérole, mais le sérum est rarement lactescent.

Les clearances montrent des anomalies portant à la fois sur les tubes et les glomérules. Un syndrome électrophorétique particulier se manifeste également.

Néphrite hypertensive :

On fut en présence soit de néphrite hypertensive simple, c'est-à-dire de néphrite ancienne sans insuffisance rénale et avec hypertension simple en dehors des poussées, soit de néphrite hypertensive avec insuffisance rénale correspondant à un stade avancé de l'affection.

Le syndrome urinaire comporte une albuminurie d'intensité variable, mais jamais très élevée ; la diurèse ne s'élève pas non plus ; la cytologie est banale. Le reste du syndrome biologique n'est pas caractéristique.

GROUPE DES NÉPHROSES : Nous fûmes en face de malades souvent jeunes, sans étiologie précise, avec le tableau classique de l'œdème de l'albuminurie importante et l'absence de signes d'insuffisance rénale.

Au point de vue biologique, il forme un groupe très bien individualisé. Dans l'urine : albuminurie massive ; cytologie souvent pauvre en dehors de la présence de corps biréfringents avec, dans les néphroses pures, l'absence de cylindre urinaire. La numération des hématies ne montre pas de grosses variations.

Dans le sang : urée normale avec le bouleversement habituel des constantes protéiques et lipidiques.

Les épreuves mixtes (clearances, électrophorèses) sont particulièrement instructives, surtout pour l'électrophorèse comparée du sang et de l'urine.

GROUPE DES DIVERS : Nous y avons fait rentrer des malades très particuliers.

Il s'agissait de malades ayant de l'albuminurie que l'on a pu rattacher à des affections très spéciales : myélomes et poussées d'hémoglobinurie.

UN CHAPITRE A PART DOIT ÊTRE RÉSERVÉ A L'INSUFFISANCE RÉNALE.

Au point de vue clinique, les signes d'insuffisance rénale se traduisent par une baisse de l'état général avec exacerbation des manifestations cliniques et apparition de complications (hémorragies, troubles cardiaques, troubles nerveux, etc...).

Sur le plan biologique, on note surtout l'élévation de certaines constantes biologiques de l'organisme qui donnent un pronostic fâcheux. Au premier plan, on note l'augmentation

progressive du taux d'urée ; on a ensuite un déséquilibre électrolytique avec augmentation ou diminution des ions Cl, Na, et surtout K qui vont aboutir à l'acidose finale avec atteinte de la réserve alcaline. Les clearances sont diminuées et les électrophorèses urinaires tendent à prendre un aspect caractéristique.

4° NOMBRE DE CAS ÉTUDIÉS ET LEUR RÉPARTITION DANS LES DIFFÉRENTES CATÉGORIES :

Sur une période de 10 mois, nous avons trouvé dans le service du Pr Ravault, 70 malades atteints de néphropathies aiguës ou chroniques ou présentant une quantité d'albumine urinaire supérieure à 1 gramme. A chacun nous avons pratiqué conjointement des électrophorèses urinaires et sanguines, certain malade ayant jusqu'à 5 électrophorèses au cours de leur séjour à l'hôpital. Mais par suite de la difficulté de concentrer des urines peu riches en albumine, nous avons obtenu des électrophorèses urinaires difficiles à interpréter; nous avons donc été obligé de les soustraire de l'étude entreprise. Finalement, il nous est resté 53 malades ayant un dossier complet avec des électrophorèses très nettes permettant un essai d'interprétation. Ces 53 malades se répartissaient dans les différents groupes présentés ci-dessus.

Groupe de néphrites aiguës :

10 malades	13 électrophorèses mixtes
------------	---------------------------

Groupe des néphrites chroniques :

Sans insuffisance rénale :

Néphrite albuminurique simple :

8 malades	8 électrophorèses mixtes
-----------	--------------------------

Néphrite hydropigène :

2 malades stabilisés	4 électrophorèses mixtes
1 en cours de poussée	1 électrophorèse au cours de la poussée
	1 électrophorèse au cours de la convalescence

Néphrite hypertensive :

4 malades 8 électrophorèses mixtes

Avec insuffisance rénale :

15 malades 21 électrophorèses mixtes

Groupe des néphroses :

6 malades 12 électrophorèses mixtes

Groupe des divers :

Malades ayant dans l'urine une fraction protéique très largement prédominante (80 à 100 %).

5 malades 8 électrophorèses mixtes

Amylose hépatique vérifiée par ponction biopsie :

1 malade 1 électrophorèse mixte

Polyarthrite ayant beaucoup d'albumine avec œdème sans urée ni cylindre et sans trouble métabolique :

1 malade 2 électrophorèses mixtes

SYNDROME PROTEIQUE URINAIRE

	Néphrite aiguë	Néphrite albuminurique simple	Néphrite hydropigène	Néphrite hypertensive	Néphrite avec insuffisance rénale	Néphrose
gr. % :						
Albuminurie totale						
Moyenne	12,2	2,2	4,9	3,5	3,9	9,4
Valeur supérieure ..	50	3,5	14	6,0	14	24
Valeur inférieure ..	0,5	0,5	1,2	1,5	0,7	1,25
Sérum albumines						
Moyenne	33,5	43,5	27,4	29,2	42,6	42,7
Valeur supérieure ..	46,4	52,9	36,7	36,7	56,1	58,2
Valeur inférieure ..	28,1	33,7	12,1	12,1	27,5	21,5
Alpha-1 globulines						
Moyenne	12,7	14,3	17,7	16,5	13,9	17,1
Valeur supérieure ..	16,4	17	20,5	20,5	19,4	24,8
Valeur inférieure ..	3,6	12,1	9,5	9,5	7,6	12,7
Alpha-2 globulines						
Moyenne	10,8	10,2	10,7	10,6	11,2	10,9
Valeur supérieure ..	16,9	16,7	19,6	11,5	18,9	14,1
Valeur inférieure ..	3,6	6,9	6,3	9,6	3,1	7,9
Bêta globulines						
Moyenne	16,8	14,1	21,1	13,8	16,9	16,1
Valeur supérieure ..	19,9	17,9	25,9	16,2	26,7	20,4
Valeur inférieure ..	3,6	10,8	19,4	19,7	8,9	13,1
Gamma globulines						
Moyenne	26,4	15,8	22,1	18,7	19,2	13,6
Valeur supérieure ..	60,2	24,2	42,2	22,6	23,5	25,5
Valeur inférieure ..	10,5	11,2	13,7	15,2	7,3	0
Rapport Alb./Glob. ...	0,53	0,86		0,60	0,76	0,78

TABLEAU DES MOYENNES DE L'ALBUMINURIE ET DES FRACTIONS PROTÉIQUES ISOLÉES
DANS LES DIFFÉRENTES AFFECTIONS RÉNALES.

	Néphrite aiguë	Néphrite albuminurique simple	Néphrite hydropigène	Néphrite hypertensive	Néphrite avec insuffisance rénale	Néphrose
gr. % :						
Protéïnémie totale :						
Moyenne	60	70,5	55,5	59,5	62,5	38
Valeur supérieure ..	82	75	68	64	77	50
Valeur inférieure ..	40	66	42	53	50	28
Sérum albumine :						
Moyenne	25,9	37,2	27,1	27,6	33,1	21,6
Valeur supérieure ..	31,1	41,3	28,9	31	42,5	35,4
Valeur inférieure ..	16,8	34,4	24,6	24	24,8	10,7
Alpha-1 globuline						
Moyenne	11	10,3	12,9	13,1	12,4	10,8
Valeur supérieure ..	15,6	15,8	15	16,2	17,5	14,8
Valeur inférieure ..	7,1	6,6	11,1	10,2	9,4	5,7
Alpha-2 globulines						
Moyenne	14,3	14,6	16,5	14,9	13,8	24,6
Valeur supérieure ..	27,8	18	23,3	17,8	19,3	42,7
Valeur inférieure ..	7,8	12,9	13,1	13,6	11,3	8,9
Bêta globulines :						
Moyenne	15,2	15,8	14,5	17,1	16,6	20,1
Valeur supérieure ..	22,8	20,1	20	20,1	23,2	36
Valeur inférieure ..	11,9	12,5	10,1	13,2	10,7	7,2
Gamma globuline						
Moyenne	33,2	21,3	28,4	26,9	24,3	22,2
Valeur supérieure ..	44,2	24,4	34,9	30,4	34,5	36,1
Valeur inférieure ..	22,9	19,1	24,5	23	17,5	13

TABLEAU DES MOYENNES DE LA PROTÉINÉMIE TOTALE ET DES DIFFÉRENTES FRACTIONS SÉRIQUES

EVALUATION DES CLEARANCES URINAIRES DES DIFFÉRENTES FRACTIONS PROTEIQUES

	Néphrite aiguë	Néphrite albuminurique simple	Néphrite hydropigène	Néphrite hypertensive	Néphrite avec insuffisance rénale	Néphrose
Clearance de la sérum albumine :						
Moyenne	0,314	0,034	0,661	0,064	0,070	0,440
Rapportée à celle de la sérum alb.	1	1	1	1	1	1
Clearance des α_1 globu- lines :						
Moyenne	0,253	0,046	0,664	0,056	0,059	0,398
Rapportée à celle de la sérum alb.	0,80	1,35	1	0,87	0,84	0,905
Clearance des α_2 globu- lines :						
Moyenne	0,090	0,015	0,202	0,031	0,053	0,118
Rapportée à celle de la sérum alb.	0,29	0,44	0,31	0,48	0,75	0,268
Clearance des β globu- lines :						
Moyenne	0,190	0,025	0,935	0,046	0,049	0,182
Rapportée à celle de la sérum alb.	0,54	0,73	1,41	0,72	0,70	0,413
Clearance des γ globu- lines :						
Moyenne	0,178	0,021	0,272	0,035	0,038	0,177
Rapportée à celle de la sérum alb.	0,50	0,62	0,41	0,55	0,54	0,405

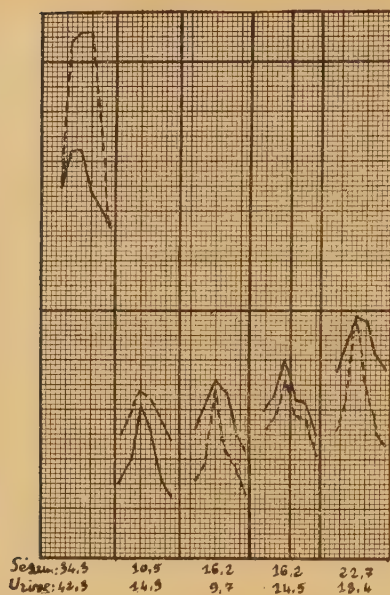
TABEAU DES MOYENNES DES CLEARANCES ET VALEUR ABSOLUE

Autre mode de présentation des cas envisagés : graphique de pourcentage.

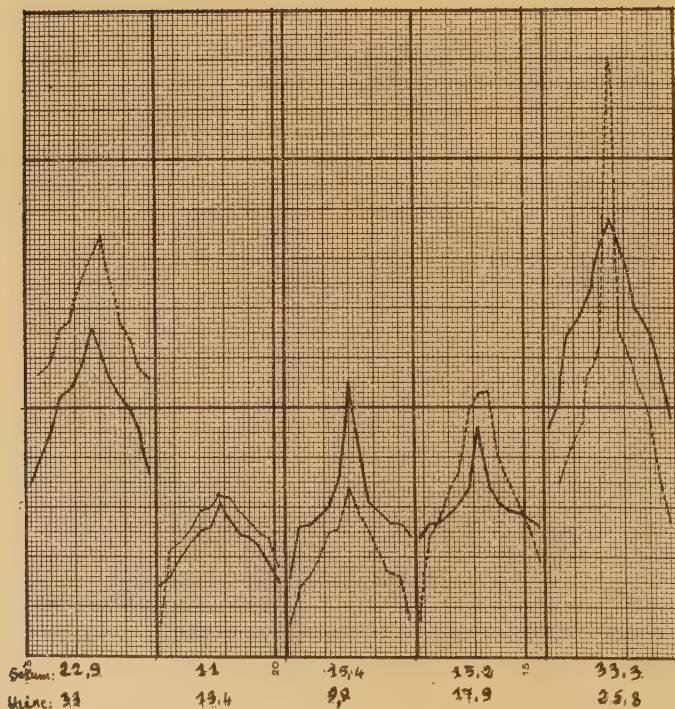
Nous avons repris les différentes affections étudiées plus haut et avons classé différemment les différents cas cliniques de celles-ci. Pour chaque type de néphropathie, nous avons pris le pourcentage de chaque fraction de chaque cas clinique et nous l'avons porté sur un graphique en mettant au milieu le pourcentage le plus fort et de part et d'autre, en ordre décroissant, les valeurs des autres cas.

Nous avons ainsi obtenu une série de courbes qui donnent l'allure générale des variations des fractions protéiques pour l'affection rénale envisagée. Nous tenons à préciser que ces graphiques ne sont nullement des courbes de Gauss. Enfin, sur le même graphique, nous avons porté également les valeurs des fractions urinaires, de sorte que l'on peut comparer, pour un même groupe d'affection, la teneur urinaire et sérique des protéines.

NEPHRITE ALBUMINURIQUE

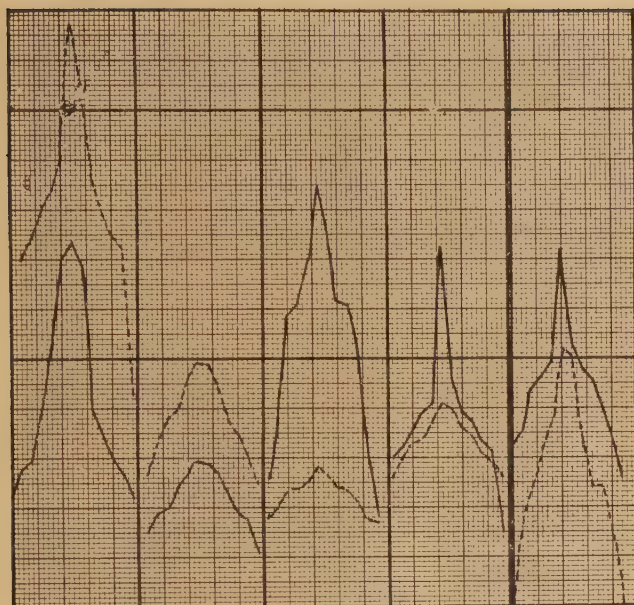


NEPHRITE AIGUE



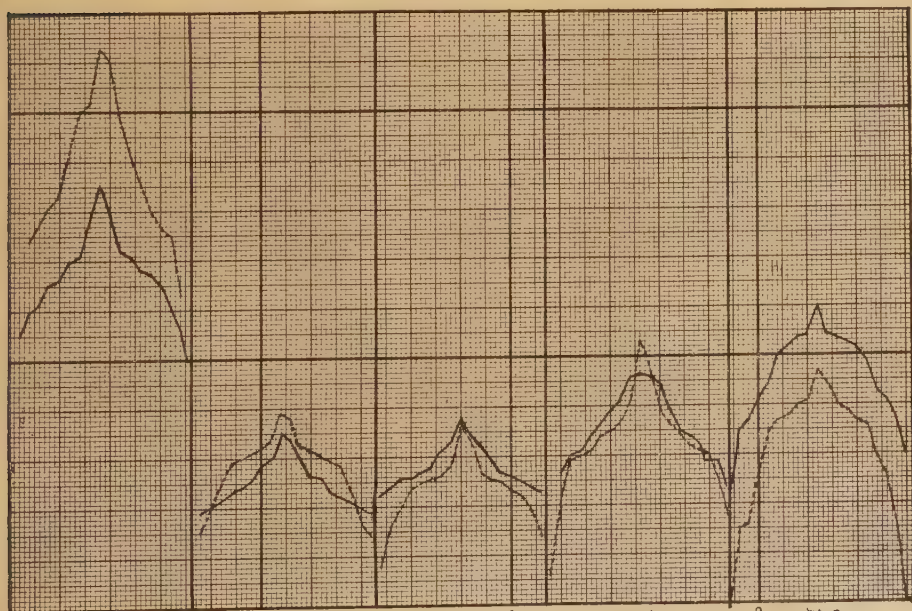
Les courbes correspondant au sérum sont en trait plein ; celles de l'urine en pointillés. Les chiffres marqués sous chaque courbe correspondent à la moyenne générale de chaque fraction dans l'affection rénale envisagée.

NEPHROSE LIPOIDIQUE



Sérum: 21,43 10,9 26,7 18,9 22,1
 Urine: 36,5 19 24,1 16,6 12,9

NEPHRITE CHRONIQUE AVEC INSUFFISANCE RENALE



Sérum: 33,4 12,5 14 17,5 29,5
 Urine: 42,5 13,8 14,3 16,7 20,4

Lipides et glucoprotéines :

Nous dirons tout de suite que l'interprétation du diagramme des glucoprotéines ne fut pas faite de manière suivie. Par suite des difficultés techniques de lecture, les cellules photoélectriques étant peu sensibles à la lumière rouge, malgré l'emploi d'un filtre vert, nous obtenions des courbes étalées qu'il était difficile d'interpréter quantitativement. De plus, le fond rouge du papier diminue encore la facilité de lecture. Aussi, nous nous sommes contentés d'une interprétation purement qualitative ; aucun chiffre ne peut être avancé. De même, les lipidogrammes sont très difficilement décomposables en courbes de Gauss ; la lecture photoélectrique est assez facile, mais les fractions sont souvent mal individualisées et aucune précision ne peut être apportée dans une décomposition gaussienne. Là encore, nous avons dû nous contenter d'appréciation qualitative.

CHAPITRE VI

INTERET DES ELECTROPHORESES URINAIRES ET SERIQUES ET DES CLEARANCES DANS LES DIFFERENTES AFFECTIONS RENALES

Valeur séméiologique de la comparaison des électrophorèses sériques et urinaires :

Un certain nombre de points peuvent être dégagés de la série d'électrophorèses pratiquées. Certains sont communs à toutes les maladies rénales ; d'autres spécifiques de chaque affection. J.-P. Soulier a entrepris en 1953 une étude systématique [29]. Nos constatations divergent sur certains points, mais sont les mêmes pour d'autres.

1° AFFECTIONS RÉNALES EN GÉNÉRAL :

a) Toutes les fractions existant dans le sérum ont été retrouvées dans l'urine quelle que soit l'affection rénale en cause. Elles existent en quantité plus ou moins importante et leur pourcentage sera variable avec le diagnostic et le cours de la maladie. Même dans les cas où apparemment on ne trouve qu'une seule bande urinaire, une concentration élevée de l'urine met en évidence de petites quantités des autres fractions. Cette question sera développée à la fin de ce paragraphe.

b) De toutes les fractions, ce sont la sérum-albumine et l'alpha-1 globuline qui passent en plus grande quantité et à un taux relativement supérieur au pourcentage de la teneur sérique. Cela apparaît nettement sur nos courbes de moyenne. Ainsi se manifestent sur le plan pathologique les relations étroites existant entre ces deux fractions ; des analogies chimiques sont par ailleurs trouvées : précipitation commune par le sulfate

de soude à 232 ‰ et composition en acides aminés voisines, étudiée par Erdall à partir de la fraction IV de Cohn [27].

Le taux d'élimination de l'alpha-2 globuline est remarquablement constant, quelle que soit l'affection rénale en cause (entre 10 et 11 ‰). La fraction bêta varie de même très peu.

II. — AFFECTIONS RÉNALES EN PARTICULIER :

a) *Néphrite aiguë infectieuse :*

Le seul diagramme électrophorétique urinaire ne peut suffire au diagnostic ou au pronostic. Envisagé seul, le diagramme moyen renferme les différentes fractions à un taux sensiblement égal à celui du sérum normal (fig. 1 et 2). Il est dans l'ensemble le reflet de la courbe électrophorétique sérique. Un point commun à toutes les néphrites aiguës existe en particulier : *l'augmentation des gamma globulines urinaires*. Une anomalie que l'on retrouvera dans d'autres groupes apparaît ici : la diminution des alpha-2 globulines. Toutefois, il est difficile de juger de l'intérêt de ce caractère dans ce groupe d'affection. On peut donc, connaissant le contexte clinique, soupçonner le diagnostic de néphrite aiguë sur une électrophorèse urinaire, mais les images sont insuffisamment caractéristiques et l'électrophorèse sérique est nécessaire.

b) *Néphrose :*

A) Ici encore l'électrophorèse urinaire n'est réellement intéressante que par sa comparaison avec celle du sérum (fig. 5).

Au premier abord, le caractère frappant est la ressemblance du diagramme urinaire à celui d'une électrophorèse sérique plus ou moins modifiée.

Le deuxième caractère, trouvé en regardant les fractions colorées sur la bande d'électrophorèse, est la faible intensité de coloration de la fraction alpha-2 qui est écrasée entre ses voisines toujours très nettement marquées ; elle apparaît sous la forme d'un véritable trou dans la coloration. Sur le diagramme électrophorétique la fraction alpha-2 est toujours proportionnellement plus petite que les fractions voisines. En se référant aux pourcentages, on s'aperçoit que ce « trou » n'est qu'une illusion d'optique, le pourcentage d'élimination de la fraction

alpha-2 étant en effet sensiblement la même dans les différentes affections rénales.

Le troisième caractère contribue à la formation du précédent : l'augmentation des fractions alpha-1 et sérum-albumine, surtout marquée pour l'alpha-1 globuline, à un taux voisin du pourcentage sérique normal. Ceci donne l'impression de petitesse à la fraction alpha-2 et l'apparente de diagramme sérique au diagramme urinaire.

Le quatrième caractère est la non-augmentation du taux des bêta globulines en proportion de l'élévation sérique, de sorte que le taux urinaire des néphroses est également de l'ordre de grandeur des autres affections urinaires.

Le cinquième caractère est le taux bas, quelquefois nul de la fraction gamma globuline qui varie dans l'ensemble parallèlement aux taux sérique.

B) Nous n'avons pas obtenu les mêmes résultats que Soulier ; alors que toutes nos électrophorèses urinaires de néphrose montraient l'ensemble des fractions, et ceci de manière très nette, Soulier distingue 3 cas : les deux plus fréquents étant constitués par la présence seulement d'albumine et de gamma globuline en proportion variable et le troisième cas (1/4 de ses observations) correspondant à ce que nous avons observé.

c) *Néphrites chroniques avec insuffisance rénale et albuminurie simple ou résiduelle :*

Le diagramme électrophorétique seul n'ajoute aucune donnée particulière si ce n'est l'habituelle élimination de sérum-albumine et d'alpha-1 globuline proportionnellement supérieure au pourcentage sérique (fig. 3). Dans les 2 affections envisagées, l'élimination de ce groupement protéique représente plus de la moitié de l'élimination protéique urinaire. Les autres fractions s'éliminent en quantité appréciable, mais il apparaît une différence entre les deux atteintes rénales ; dans les néphrites albuminuriques simples, l'élimination totale des globulines est inférieure à celle des néphrites chroniques avec insuffisance rénale ; la différence paraît porter surtout sur les gamma globulines. Cette constatation tendrait à se rapprocher de celle de Blackmann, sur l'augmentation des globulines dans les formes graves.

d) *Néphrite hydropigène* :

Nous ne pouvons que citer nos résultats sans rien en déduire, car nous n'avons pu observer qu'un cas évolutif de néphrite hydropigène (d'ailleurs extrêmement typique au point de vue clinique), cas que nous avons pu revoir au cours de son évolution vers l'amélioration. A côté, nous avons observé également 1 cas de néphrite hydropigène dont le syndrome néphrotique était à peu près disparu et qui évoluait vers l'insuffisance rénale, et 1 cas stabilisé n'ayant presque plus d'albumine.

Au cours de la poussée, nous avons retrouvé l'allure générale de la courbe d'électrophorèse urinaire de la néphrose lipoïdique avec la diminution apparente des alpha-2 globulines, l'augmentation marquée des alpha-1 globulines et la diminution des gamma globulines (fig. 4). Toutefois, la sérum-albumine urinaire était à un taux inférieur au taux habituel des néphroses, tandis que la fraction bêta était très supérieure à la valeur moyenne trouvée dans cette maladie. Au cours de l'amélioration clinique, l'électrophorèse fut semblable, mais non pareille, c'est-à-dire que le taux d'albumine urinaire ayant diminué, chaque pic était moins haut sans que le pourcentage varia sensiblement.

e) *Néphrite hypertensive* : aucune caractéristique particulière ne put être relevée.

III. — VALEUR DU RAPPORT ALBUMINE/GLOBULINE DANS L'URINE :

Certains auteurs ont étudié les variations du rapport albumine-globuline et ont voulu voir dans la diminution de ce rapport l'indication d'un pronostic grave. Blackmann [28], en 1941, avait repris la question et avait étudié 42 cas se répartissant dans les différentes affections. Il avait établi une valeur pronostique suivant la quantité de protéines urinaires, la gravité augmentant avec l'élévation de la protéinurie et suivant la qualité de ces protéines, les cas graves ayant renfermé surtout des gamma globulines. En outre, en 1943, Blackmann et Davis [40] auraient remarqué que la fraction gamma globuline dans l'urine des néphroses augmentait parallèlement à l'installation de l'insuffisance rénale ; par contre, elle était basse dans les néphroses lipoïdiques chroniques.

Ceci va à l'encontre des données modernes sur la constitution des protéines de la protéinurie physiologique. En effet, comme nous l'avons dit plus haut, à l'état normal, le rapport S/G est inversé dans l'urine, de sorte que la notion de rapport S/G perdrait de son importance pour la notion de valeur absolue de l'albuminurie. Nous avons cherché les variations de ce rapport au cours de l'évolution de nos malades. Les résultats trouvés ne sont pas très nets et varient avec l'étiologie de l'affection rénale ; c'est ainsi que dans les néphrites aiguës, assez souvent de bon pronostic et pouvant guérir avec le minimum de séquelles, le rapport est fortement inversé, tandis que dans les néphroses évolutives de mauvais pronostic, le rapport tend à se rapprocher de l'unité.

De même, on a voulu se servir de la valeur de ce rapport pour le diagnostic [29] ; au-dessus d'une certaine valeur, le chiffre trouvé traduirait un cas de néphrose, et au-dessous, un cas de néphrite. Ces résultats doivent être acceptés avec prudence. La valeur limite varie en effet suivant la technique employée : électrophorèse en cuve ou sur papier et pour cette dernière, suivant la coloration. D'autre part, nous avons essayé d'appliquer cette méthode de diagnostic à nos malades. Nous ne sommes pas arrivés à des résultats bien concluants.

Il semble donc que l'intérêt de ce rapport dans l'urine ne soit pas aussi important que celui qu'il a dans le sérum. En dehors de quelques cas comme ceux du groupe des albuminuries simples ou avec insuffisance rénale où une tendance à l'augmentation des gamma globulines apparaît, rien de très positif ne paraît devoir être retiré de cette constatation.

IV. — CAS DES MYÉLÔMES :

Sur les 70 malades étudiés, nous avons eu la surprise de trouver 3 fois, en révélant les électrophorèses urinaires, des images absolument atypiques caractérisées par la présence d'une bande protéique existant en proportion très importante (70 à 80 %) ou même représentant *apparemment* la totalité de la protéinurie. Chacun de ces 3 malades était entré dans le Service pour un syndrome de néphrite chronique plus ou moins ancien et à début très flou. Ils ont pu être suivis pendant

plusieurs mois et ont eu ainsi plusieurs électrophorèses avec coloration des protéines totales par le bleu de bromophénol, coloration des lipides par le noir soudan (dans le sérum et l'urine) et essai de coloration des glucoprotéines par le réactif de Schiff.

Nos malades pouvaient se répartir en deux groupes : un avec une anomalie urinaire extrêmement marquée et un sérum normal ; l'autre avec des anomalies urinaires aussi intenses, mais avec en plus une fraction protéique sérique anormale de *moyenne* importance, surajoutée dans la région des β - γ globulines, jamais très accusée comme celle trouvée dans les myélomes typiques. En somme, il s'agissait de malades sans manifestation clinique des myélomes ayant *essentiellement une protéinurie très anormale avec un sérum plus ou moins modifié*. L'anomalie urinaire consistait en une fraction protéique homogène, d'aspect électrophorétique très particulier, sous forme de bande étroite, très nette, très bien colorée, représentant de 80 à 100 % de la protéine totale. Quand elle ne formait qu'une partie de la protéinurie, elle était accompagnée essentiellement de sérine albumine et de très faible quantité des autres fractions. En fait, cette association semble exister toujours, car en concentrant plusieurs dizaines de fois une urine à bande unique (ce qui entraîne toujours d'importantes dénaturations et rend illusoire toute interprétation quantitative), on trouve, à l'électrophorèse de cette urine hyperconcentrée, des fractions qui semblaient manquer dans l'électrophorèse normale ; si on fait migrer ensemble, dans le même bac et dans les mêmes conditions d'expérience, le sérum et cette urine concentrée, les fractions urinaires se superposent alors aux fractions sériques. La situation de la fraction urinaire anormale semble être, soit au niveau des γ globulines, soit entre les β et γ globulines. On chercha systématiquement à identifier cette protéine à la protéine de Bences-Jones par précipitation à 60° et solubilisation à 100° après addition de ClNa et acide acétique en quantité convenable. La filtration de l'urine portée à ébullition avait lieu sur un entonnoir situé dans une étuve à 100° ; la recherche fut toujours négative ; le filtrat refroidi ne reprécipita jamais. Il semblerait donc que la protéine urinaire à bande unique ne soit pas toujours une protéine de Bences-Jones.

Dans le sérum, l'anomalie, quand elle existait, se présentait sous forme d'une fraction étroite nettement individualisée.

mais de coloration variable, soit intense, soit au contraire faible. L'intensité de coloration ne doit jamais être appréciée en valeur absolue, mais toujours par rapport aux autres fractions sériques ; seuls les pourcentages sont comparables d'une bande à l'autre. C'est ainsi que parmi les différentes électrophorèses pratiquées chez un même malade, certaines bandes étaient très colorées, d'autres moins ; la valeur absolue de l'intensité de coloration variait dans de larges proportions, mais le pourcentage ne variait que dans de faibles limites. Chez nos deux malades ayant une anomalie protéique, la proportion de la fraction anormale se situait entre 15 et 21 % de la quantité totale des protéines sériques et le taux n'a pratiquement pas varié au cours du séjour des malades à l'hôpital. Pour apprécier ce pourcentage, il faut tenir compte de notre méthode de coloration par le bleu de bromophénol, colorant qui se fixe différemment sur les diverses fractions. Aussi faut-il se rapporter à un pourcentage moyen de sujets normaux.

Les chiffres trouvés pour cette fraction anormale correspondent alors à un taux inférieur à celui des globulines normales colorées par le bleu de bromophénol. On est loin ainsi des taux très élevés des myélômes classiques. Cette fraction se situait toujours entre les γ et β globulines. Dans le cas où aucune fraction anormale du sérum ne fut relevé, il n'y avait pas non plus augmentation conjointe des β et γ globulines.

Au point de vue clinique, deux de nos malades se présentaient comme des néphrites chroniques sèches azotémiques non hypertensives ; le troisième était un épithélioma gastrique avec albuminurie.

PREMIER CAS : Irma F..., 45 ans, Cultivatrice.

A. — HISTOIRE CLINIQUE :

Début en novembre 1953 par des troubles digestifs violents avec vomissements, douleur abdominale.

Pas de traitement plusieurs jours.

Hospitalisation à Mâcon en décembre 1953 : on diagnostique une glomérulo-néphrite.

Albumine : 16 g. ; Urée : 0,50 ; G.R. : 2.500.000.

Dans les jours qui suivent, l'albuminurie serait montée à 30 gr. (!), puis redescendue au taux actuel, tandis que l'urée grimpeait progressivement.

On envoie alors la malade à l'hôpital de Grange-Blanche en février 1954 ; elle y restera 3 mois.

A l'entrée, malade au mauvais E.G., avec anorexie, vomissements, céphalées plus ou moins intenses.

Pas d'œdème ; T.A. : 13/7.

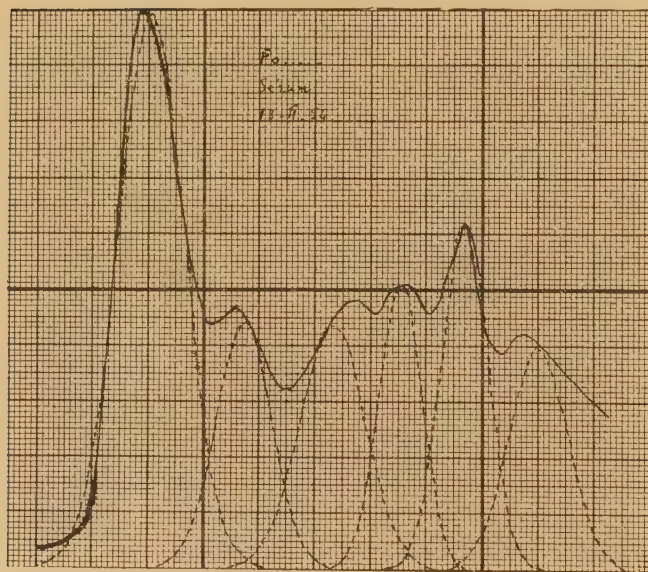
B. — EXAMENS DE LABORATOIRE. Les principaux ont été les suivants :

1° Sang :

Urée : 1 g. 80 à l'entrée, puis baisse progressive jusqu'à 1 g. 10 et remontée vers la fin du séjour à 1 g. 70.

Protéines : protéines totales, par la méthode du Biuret ; 10 dosages ont été pratiqués, toujours entre 65 et 72 gr.

Le rapport S/G est à 1,22.



Sérum



Urine

La fraction unique de l'urine était toujours située par rapport au sérum entre la fraction β et la fraction γ des globulines.

2° Urine :

Albuminurie : entre 7 et 12 gr. ; pas d'albumine de Bences Jones.

3° Electrophorèse :

a) Electrophorèse sanguine : coloration par le bleu de bromophénol.

Sérum albumine : 33 % ; $\alpha 1$: 13 % ; $\alpha 2$: 15,1 % ; β : 11,3 % ; γ : 12,5 %.

Protéines anormales entre β et γ glob. 15,1 % ;

b) *Electrophorèse urinaire* :

Bande unique située dans la région habituelle des β globulines : 100 % après coloration spécifique des protéines.

La coloration par le noir soudan montre que cette fraction renferme des lipides.

C. — *RADIOGRAPHIE* : Les examens radiographiques du crâne, des os longs ne montrent aucune image suspecte.

D. — *MYÉLOGRAMME* : Le myélogramme est normal.

La malade est rentrée chez elle le 25 avril 1954 ; depuis, on a appris sa mort sur laquelle nous n'avons pas de détail.

2° CAS : Joseph M..., 60 ans, ouvrier.

A. — *HISTOIRE CLINIQUE* :

En septembre 1953 : douleurs très variables en intensité et localisation, située vers les fausses côtes.

En octobre 1953, syndrome urinaire avec pollakiurie, brûlures à la miction, pyurie ; son médecin traitant fait analyser les urines : taux d'albumine variables d'un jour à l'autre, entre 4 et 11 g.

Le malade entre à l'hôpital Grange-Blanche fin novembre 1953.

Bon E.G.

Le syndrome urinaire disparaît rapidement avec un traitement banal.

B. — *EXAMENS DE LABORATOIRE* :

1° *Sang* :

a) *Urée* : 1,08 (découverte d'examen).

Elle baisse un peu à 0,95 sous l'effet du traitement ; mais remonte inexorablement jusqu'à la fin où elle atteint 5 g. 55.

b) *Protéines* :

Aux différents examens pratiqués, le taux oscilla entre 72 et 78 g.

Rapport S/G : 1,12.

c) *Par ailleurs, troubles importants du Na, K, R.A., Chlore hématocrite, résistivité.*

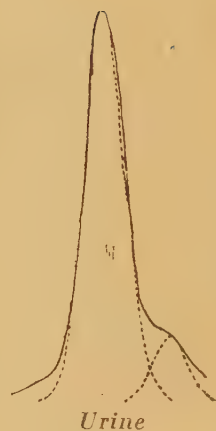
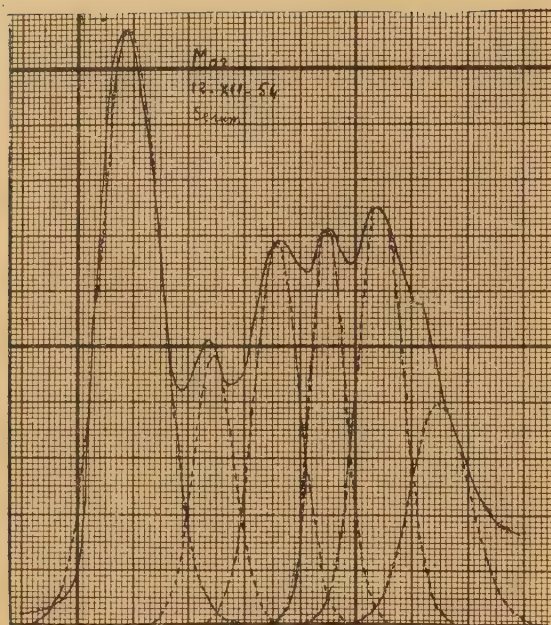
d) *Electrophorèse* :

Du 12-12-53 :

Albumine : 33,1 % ; α_1 : 9,8 ; α_2 : 15,6 ; β : 12,3 ; pic anormal entre β et γ : 17,2 ; γ : 11,9.

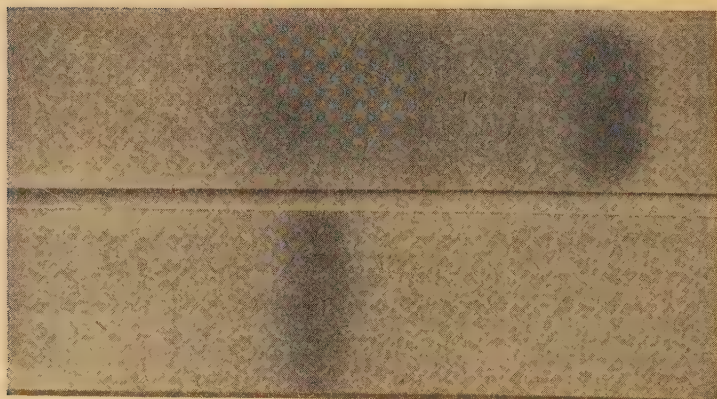
Du 30-1-54 :

Albumine : 35,6 % ; α_1 : 8,7 ; α_2 : 14,4 ; β : 12,2 ; pic anormal : 21,1 ; γ : 7,9.



Sérum

La fraction unique de l'urine était toujours située par rapport au sérum entre la fraction β et la fraction γ des globulines.



2° Urines :

- a) *Albuminurie* : variable de 6 à 12 g. $\text{°}/_{00}$.
- b) *Electrophorèse* : toujours trouvée identique avec, dans la région des β - γ globulines, un pic important (88 %), et un clocher beaucoup plus faible vers les γ globulines (12 %).

C. — MYÉLOGRAMME : Le myélogramme est strictement normal.

D. — RADIOGRAPHIE : montre une lésion vertébrale de L3 avec rupture de l'isthme.

Mais le Pfr Ravault n'interprète nullement l'image de cette lésion comme étant celle d'un myélome ; il conclut à une discopathie avec rupture de l'isthme de L3, traumatique ou, à la rigueur, congénitale.

Le 12 février, le malade est emmené mourant, dans un précoma urémique (urée : 5 g. 55).

3° CAS : Benoît M..., 76 ans, sans profession.

Ce malade serait celui qui cliniquement serait le plus troublant et se rapprocherait le plus de la symptomatologie d'un myélome.

A. — HISTOIRE CLINIQUE :

Début de l'affection : fin décembre 1953 par une baisse de l'E. G.

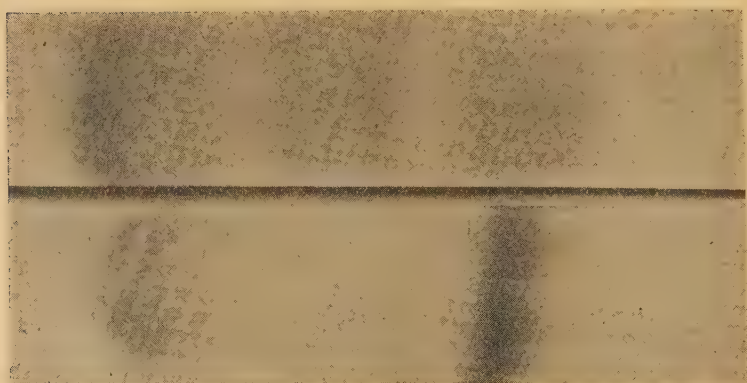
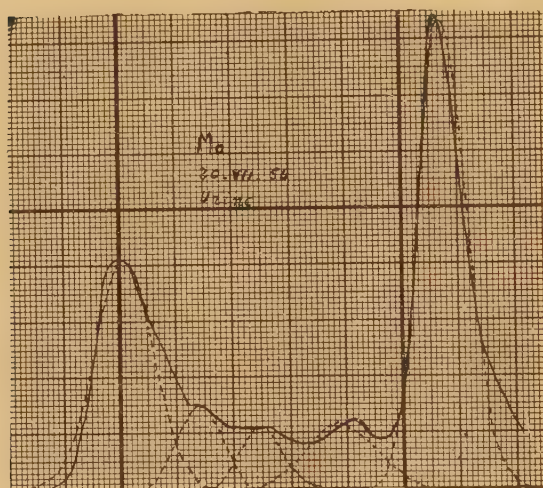
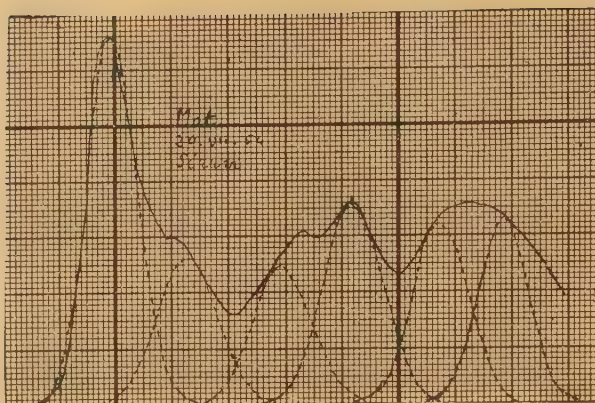
Entre à l'hôpital en février 1954.

A l'entrée, malade en mauvais état général, avec une pâleur très intense et de l'albuminurie ; langue plus ou moins décapillée. Par la suite, plusieurs hématomés se produisirent.

B. — ESAMENS DE LABORATOIRE :

1° *Sang* : parmi les différents examens pratiqués, on relève :

- a) *Urée* : autour de 0 g. 50, tout au long du séjour.
- b) *Protéines* : ont oscillé autour de 40 g. avec rapport S/G à 2 et au-dessus.
- c) *Numération* :
800.000 G.R. au départ ; par la suite, numération jamais supérieure à 3.000.000.
- d) *Formule* : toujours de la polynucléose avec de temps à autre, de rares plasmocytes.
- e) *Electrophorèse* : pas de fraction anormale.



23 avril : Alb. : 41,1 % ; α^1 : 14,9 ; α^2 : 9,7 ; β : 12,2.

γ (décomposé en 2 fractions après projection de Gauss) 15,5 + 6,4 (21 9).

13 juillet : Alb. : 25,7 ; α^1 : 12,2 ; α^2 : 14,2 ; β : 17,4 ;

γ (en 2 fractions) : 12,6 + 17,8 (30,4).

Le 20 juillet, on refait une électrophorèse de contrôle ; on retrouve pratiquement les mêmes chiffres :

Alb : 27,6 ; α^1 : 13,8 ; α^2 : 11,9 ; β : 17,6.

γ : 14,5 + 14,6 = 29,1.

2° Urines :

a) *Albuminurie* : peu variable ; en général autour de 3 g. ; pas de cylindre.

b) *Electrophorèse* : reste remarquablement constante.

23 avril : Alb : 29,1 ; α^1 : 9,1 ; α^2 : 4,5 ; β : 8,2 ;

γ : 49,1.

17 juillet : seuls 2 pics étaient bien individualisés.

Alb. : 27,6 %, un pic vers les γ globulines : 51,8 %.

Entre les 2 existaient des fractions mal individualisées : 20,6 %.

20 juillet : Alb. : 29,5 % ; α^1 : 9,3 % ; α^2 : 5,5.

β : 8,7 % ; γ : 47 %.

3° Radiographie :

a). gastrique : image faisant penser à un épithélioma gastrique.

b) Les autres radiographies n'ont pas montré de lésions osseuses.

4° *Myélogrammes* : pratiqués dans le service du D^r Croizat.

Présence de mégalo-blastes dans le premier myélogramme ; jamais retrouvés dans les suivants.

En somme, dans les 3 cas, on est en présence de sujets ayant une élimination protéique urinaire particulière constituée pratiquement que par une seule fraction. Dans tous les cas, la clinique ne peut apporter aucune certitude en dehors de quelques présomptions. Seul l'électrophorèse urinaire permet de risquer le diagnostic de myélôme. La question est donc de savoir si sur toute image urinaire analogue, on doit porter formellement ce diagnostic.

Il semble bien que la réponse puisse être affirmative. Nous avons eu dernièrement l'occasion de faire une électrophorèse

sanguine et urinaire pour un malade du Pr Froment, dont le diagnostic de myélôme fut vérifié cliniquement et hématologiquement. L'albuminurie se révéla composée d'une fraction unique située entre les β et γ globulines avec image sérique anormale. De même, les auteurs américains Elliot F., Osserman et Dolorès P. Lawson [7] viennent de publier une série de 35 cas de myélômes vérifiés par myélogramme et radiographie. Leurs malades se répartissent en trois groupes :

- un groupe avec les anomalies caractéristiques habituelles du sérum et de l'urine : 49 % des cas (17 malades) ;
- un groupe avec atteinte du sérum seul : 31 % (11 malades) ;
- un groupe avec anomalie urinaire seule : 20 % (7 malades).

De plus, ils signalent avoir eu dans le troisième groupe (anomalie urinaire seule), plusieurs cas d'absence de Protéines de Bence-Jones, malgré une électrophorèse urinaire montrant une bande unique. Par contre, toutes les albuminuries de Bence-Jones trouvées se révélèrent par une bande unique à l'électrophorèse. La recherche de l'albuminurie de Bence-Jones était pratiquée suivant la technique classique. Aussi semble-t-il que toutes les urines ayant une albumine de Bence-Jones sont électrophorétiquement positives avec une fraction très marquée, tandis que des urines peuvent présenter une fraction unique, malgré l'absence d'albumine de Bence Jones.

En conclusion, il semble que l'électrophorèse urinaire doit être faite systématiquement dans toutes les albuminuries, élevée et sans étiologie précise.

En pratiquant ainsi conjointement les 2 électrophorèses, on découvrira des protéinuries anormales sous forme de bande unique, souvent sans anomalie sérique ou avec anomalie peu importante qui pourront orienter le diagnostic vers un myélôme caché, comme l'ont montré les auteurs américains. Les examens complémentaires (radiographie osseuse, myélogramme) pour ront alors être pratiqués.

V. — EN CONCLUSION, l'électrophorèse urinaire *SEULE* ne peut suffire. Dans certains cas, elle est primordiale et contribue à l'établissement du diagnostic. Mais dans l'ensemble, elle n'est

qu'un appoint et devra toujours s'accompagner d'une électrophorèse sérique ; ensemble, elles pourront alors permettre le calcul des clearances des différentes fractions protéiques.

Valeur sémiologique des électrophorèses urinaires envisagées seules :

Cette question a déjà été traitée de très nombreuses fois ; mais en fait, il s'est agi le plus souvent des néphroses lipodiques, les autres affections rénales ayant été, semble-t-il, moins étudiées. Si on compare les travaux étrangers avec les travaux français, on s'aperçoit que les sujets étudiés ont été sensiblement les mêmes et les résultats trouvés à peu près identiques. Aussi nous nous rapporterons essentiellement aux travaux français qui ont été assez nombreux dans ces dernières années [31, 32, 33, 34, 35, 36]. Nous nous contenterons de citer ce que nous avons constaté et de le comparer avec les remarques des différents auteurs. D'autre part, par rapport aux électrophorèses urinaires, nous sommes avantagés car nous pouvons nous référer à des valeurs physiologiques de chaque fraction.

1° NÉPHRITE AIGUE POST-INFECTIEUSE :

L'électrophorèse est assez caractéristique (fig. 1 et 2). Dans tous les cas en pleine évolution nous avons constaté une chute apparente de la sérum albumine se traduisant par un pourcentage moyen abaissé. Si on se réfère à la valeur absolue le résultat est moins marqué et la baisse est relativement faible. Le pourcentage est diminué par suite d'une forte augmentation des gamma globulines ; le pourcentage des autres globulines, par suite d'une légère augmentation, se maintient près des valeurs trouvées chez les témoins.

Plusieurs conséquences importantes en découlent :

— baisse très marquée du rapport S/G par suite de l'augmentation des globulines et de la baisse légère de la sérum albumine. C'est ainsi que certains de nos malades ont eu un rapport très inférieur à 1 de l'ordre de 0,6 à 0,8. Cliniquement il n'y a aucun signe de néphrose ou de trouble hépatique, et

la sérum albumine et les alpha-1 globulines ne sont jamais effondrées. Il s'agit donc d'une fausse inversion protéique.

— augmentation du taux des protéines totales sériques par

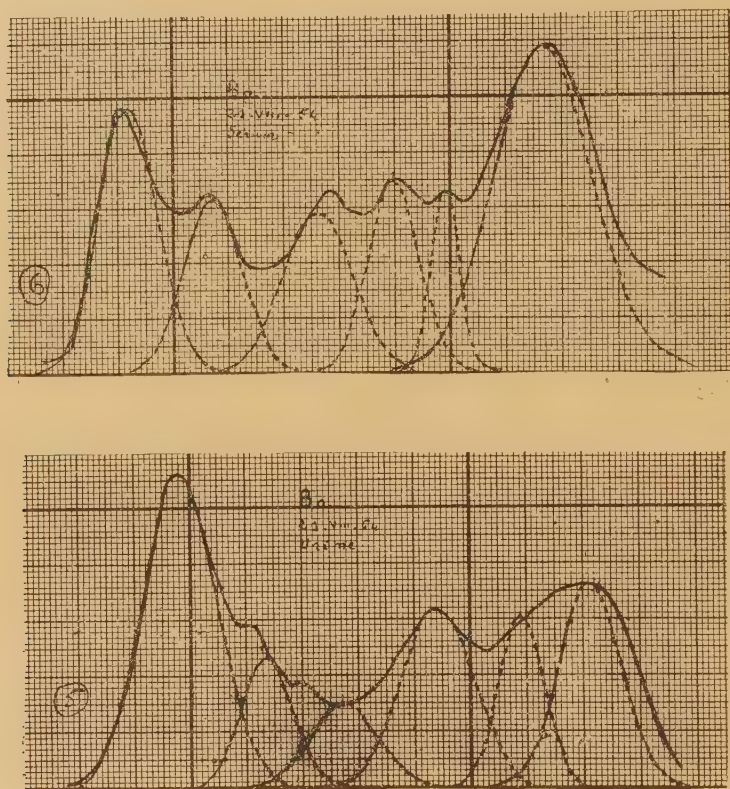


Fig. 1

suite de l'absence d'effondrement de la sérum albumine sérique jointe à l'augmentation des gamma globulines. Nous avons trouvé des taux de protéines totales atteignant 82 gr.

L'évolution dans le temps est assez caractéristique ; le taux des gamma globulines baisse au début du décours de la maladie mais il se maintient pendant longtemps au dessus du chiffre normal de nos témoins (soit 25 %). Au bout de 6 mois, chez un de nos malades ayant eu une très forte néphrite aiguë qui avait guéri complètement au point de vue clinique, l'électrophorèse montrait encore une élévation notable des gamma globulines à

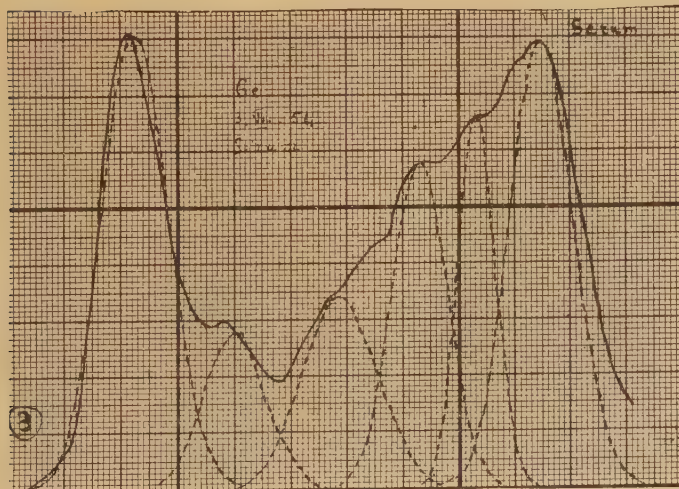
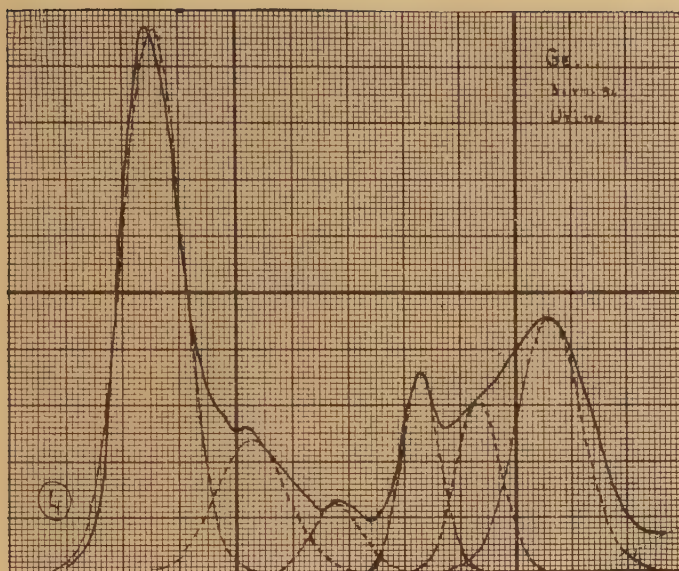


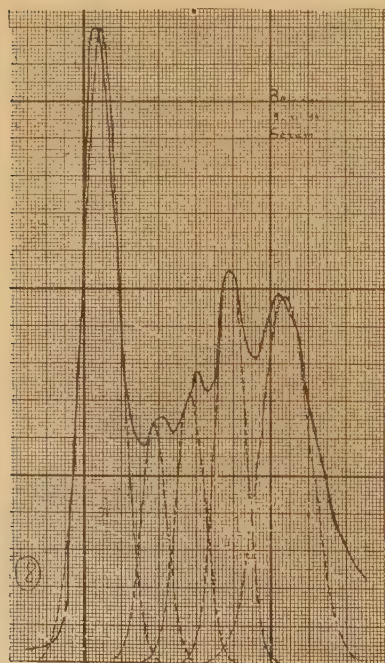
Fig. 2

environ 35 % ; au cours de la poussée évolutive le taux était monté à 44,2 %.

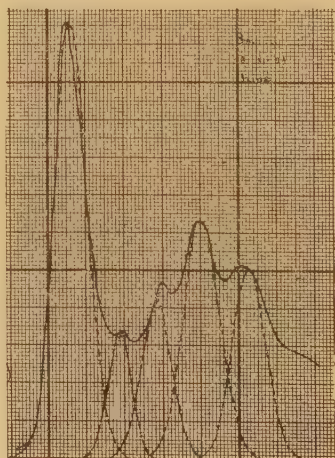
Le cas des poussées de néphrite aiguë sur un fond de néphrite chronique est assez particulier. Il s'agit, en effet, de malades qui peuvent avoir au départ un taux relativement bas de protéines, de sorte que l'augmentation est plus ou moins dissimulée. L'électrophorèse prend, ici, toute son importance en montrant l'élévation des gamma globulines ; elle contribue fortement alors à établir le diagnostic. Mais le retour à la normale est assez rapide et bientôt on retrouve le taux du départ avant la poussée de néphrite aiguë.

2° NÉPHRITE ALBUMINURIQUE SIMPLE ET AVEC INSUFFISANCE RÉNALE :

Ces affections, cliniquement extrêmement dissemblables, présentent des diagrammes électrophorétiques sériques pratiquement normaux. Les pourcentages trouvés pour les différentes



Sérum



Urine

Fig. 3

fractions des néphrites avec insuffisance rénale, sont exactement ceux de nos sérums témoins (fig. 3). Dans les néphrites albuminuriques simples le diagramme moyen est également proche de nos moyennes ; toutefois on note, en se référant au tableau des résultats, une légère augmentation de la sérum albumine avec chute parallèle des globulines. Une autre différence se manifeste aussi dans la valeur des protéines totales ; le tableau d'insuffisance rénale s'accompagne assez souvent d'une chute marquée des protéines tandis que dans l'albuminurie résiduelle le chiffre de protéines est maintenu au taux habituel. Pour Jayle [32] le symptôme dominant serait, dans l'insuffisance rénale, une chute de la sérum albumine avec baisse du chiffre total des protéines ; les globulines seraient, par contre, en hausse.

3° NÉPHROSE :

Au sujet de l'électrophorèse sérique dans la néphrose, de nombreux travaux ont déjà été faits (32 à 44). Parmi nos néphrotiques nous avons eu des adultes, des enfants et des adolescents. Au point de vue évolution clinique, ces derniers se sont rangés soit parmi les adultes, soit parmi les enfants, ceux-ci étant les seuls à avoir présenté des guérisons dont certaines furent spectaculaires.

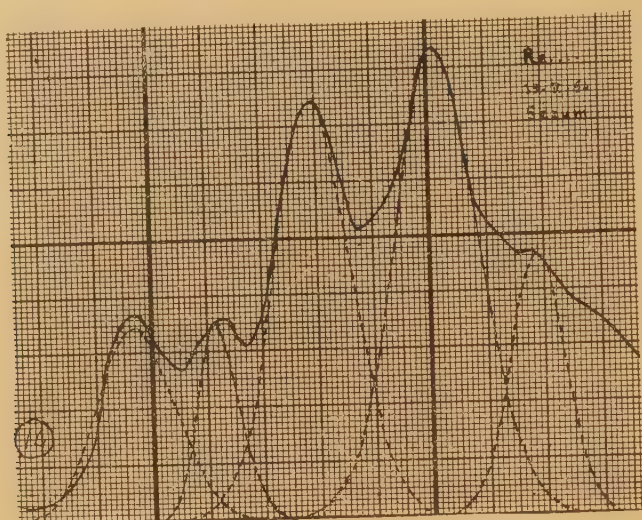
A. — *Tableau électrophorétique au cours de la poussée :*

a) *Chez l'adulte :* nous avons retrouvé le tableau classique déjà bien décrit (32, 33, 36).

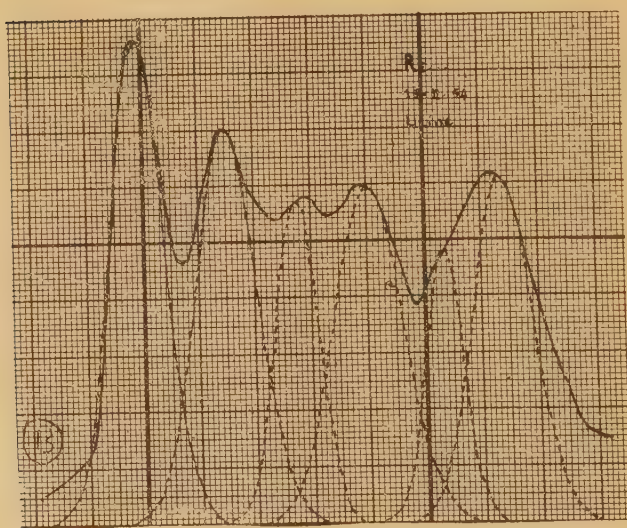
Protidogramme (fig. 5). :

— Effondrement de la sérum albumine concomittante à une baisse souvent marquée de l'alpha-1 globuline. Cette baisse ne se traduit pas toujours, comme le fait remarquer Raynaud [36], par une baisse du pourcentage ; nous avons trouvé, en effet, des pourcentages d'alpha-1 globuline supérieurs au taux moyen. C'est la valeur absolue qui est diminuée par suite de l'abaissement du chiffre des protéines totales. Sur le graphique d'électrophorèse on peut apprécier la diminution des alpha-1 globulines par la mesure de la surface de la courbe de Gauss

correspondante ; si les électrophorèses ont toutes été pratiquées dans les mêmes conditions d'appareillage, de tampon, de colo-



Sérum



Urine

Fig. 5

rant, de temps de manipulation, on peut comparer deux bandes d'électrophorèses pratiquées à des moments différents malgré

qu'il s'agisse de valeurs absolues ; les résultats, sans être rigoureusement exacts, sont suffisants pour la clinique.

— Augmentation massive des alpha-2 globulines en valeur relative et absolue.

— Augmentation des bêta globulines mais relativement faiblement par rapport au lipidogramme.

— Diminution des gamma globulines.

Lipidogramme :

— Nous avons fait systématiquement des lipidogrammes avec chaque électrophorèse protidique de néphrose. Après établissement du graphique nous n'avons jamais décomposé en courbes de Gauss par suite de l'imprécision relative des diagrammes obtenus.

— Nous sommes retombés sur les mêmes constatations que Raynaud [36] c'est-à-dire : abaissement des lipoprotéines du groupe de la sérum albumine alpha-1 globulines, hypertrophie énorme d'un groupe de lipoprotéine située vers les bêta globulines mais en avant entre alpha-2 et bêta globulines, ce qui indique leur différence par rapport aux lipoprotéines normales, existence de 1 ou 2 fractions plus ou moins individualisées situées au niveau des bêta et gamma globulines, les lipoprotéines bêta rapides et bêta lentes de Raynaud. En fait, contrairement à Raynaud, nous n'avons jamais trouvé que ces fractions apparaissent très nettement ; le plus souvent elles se confondent en une traînée toujours très intense rejoignant la ligne de départ. Nous n'avons rencontré que dans ce groupe d'affection une traînée aussi marquée ; elle paraît comme un bon signe biologique de néphrose.

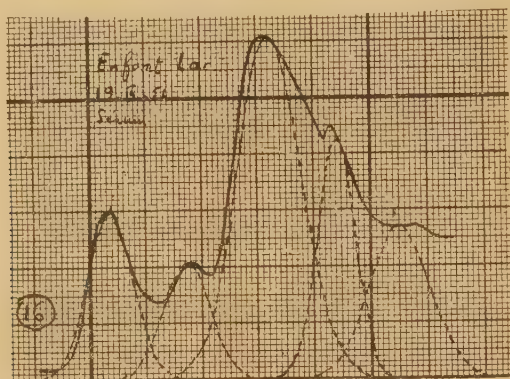
— Au point de vue biochimique de très nombreuses discussions ont essayé d'éclairer leur constitution. Une vue générale de la question a été faite dernièrement par Enselme [27]. Il semble que les lipoprotéines des néphroses soient très particulières et n'existent pas chez le sujet normal. La traînée serait due aux chylomicrons qui ont peu migré.

Glucidogramme :

Le glucidogramme, pratiqué souvent, nous montra une hypertrophie des alpha-2 globulines. Mais contrairement au lipidogramme on note un parallélisme marqué entre protidogramme et glucidogramme. Toute fraction augmentée dans le glucidogramme l'est également dans le protidogramme. Toutefois la réciproque n'est pas vraie. Il semblerait donc que le glucidogramme n'est qu'un appoint non indispensable.

b) Chez l'enfant (fig. 6) :

Il semble que l'on puisse parler de néphrose de l'enfant jusqu'à 14-15 ans environ car, à cet âge, l'évolution vers la guérison devient beaucoup plus rare. Parmi nos malades nous avons eu 2 néphroses chez de jeunes enfants (2 à 4 ans)



Sérum

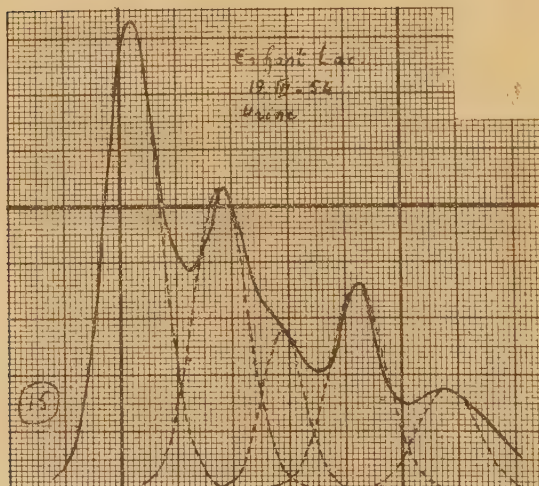


Fig. 6

Urine

et 2 néphroses d'enfants de 14 ans ; parmi ces dernières l'une a guéri parfaitement, l'autre a suivi l'évolution habituelle de la néphrose. Les diagrammes électrophorétiques obtenus sont très superposables de l'adulte. Une différence apparaît fréquemment : la tendance très marquée à l'hypogammaglobulinémie ou même à l'agammaglobulémie.

B. — Variation électrophorétique du sérum au cours de l'évolution clinique :

Les variations électrophorétiques sont assez simples ; toute aggravation ou rechute entraîne l'aggravation de toutes les anomalies de l'électrophorèse sans distinction. L'amélioration ou la guérison ont pu être suivies chez 3 de nos jeunes sujets après traitement à l'A. C. T. H. ou même spontanément. Dans les 3 cas les modalités de l'évolution furent les mêmes à quelques détails près :

— remontée rapide et simultanée de l'albumine et de l'alpha-1 globuline ; en l'espace d'un mois, chez un de nos petits malades, qui avait particulièrement bien réagi à l'A. C. T. H., albumine et alpha-1 globuline étaient remontées à leur valeur normale en partant d'un taux particulièrement bas.

— baisse plus lente des alpha-2 globulines et de la bêta globuline s'étageant sur 1 ou 2 mois.

— remontée lente de gamma globulines : au bout de 3 mois le taux normal était seulement atteint.

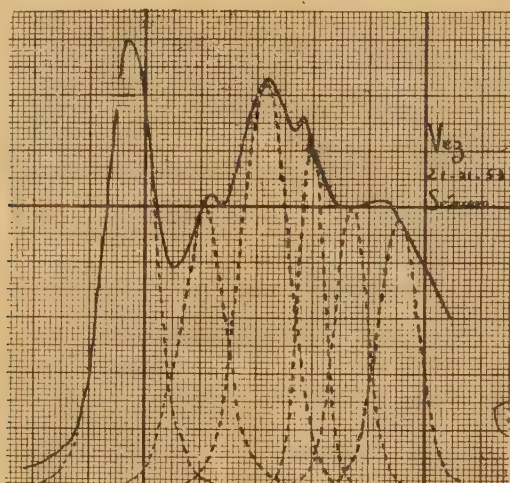
Cette évolution chez l'enfant après traitement à l'A. C. T. H. a été signalée par différents auteurs américains (42, 43, 44). Ils signalent les variations favorables des différentes fractions protéiques à l'exception des gamma globulines qui, d'après eux, augmentent à peine.

Fansworth et Ruppenthal (43), sur 10 cas d'amélioration après A. C. T. H., notent le retour à la normale de toutes les fractions, à l'exception des gamma globulines dont la normalisation ne fut obtenue que dans 1 cas.

4° NÉPHRITE HYDROPIGÈNE :

Il s'agit d'un état néphritique avec un syndrome néphrotique surajouté. Devant le petit nombre de cas que nous avons eu, on ne peut tirer aucune conclusion ; on ne peut que rapporter des constatations. L'électrophorèse sérique (fig. 4) se rapproche beaucoup de celle de la néphrose avec l'augmentation des alpha-2 globulines et des bêta globulines. Par contre, on notait quelques dissemblances : une baisse moindre de la sérum albumine et la non atteinte des gamma globulines, le taux plus élevé des protéines totales. En fait, ce ne sont que des nuances

et il semble que l'électrophorèse sérique ne puisse poser le diagnostic différentiel entre néphrose et néphrite hydropigène ;



Sérum

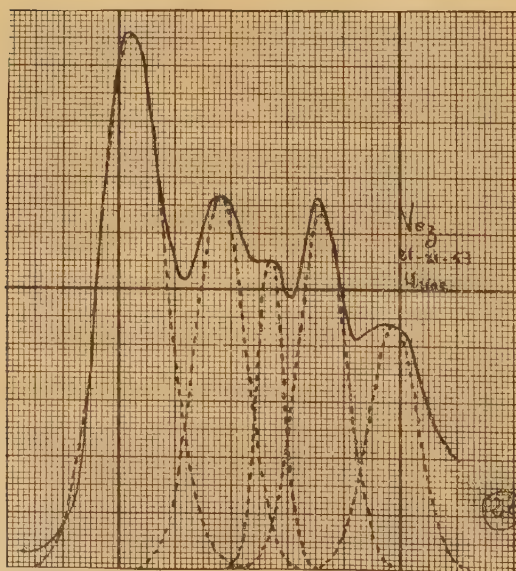


Fig. 4

Urine

elle établirait même, sur le plan biologique, un rapprochement entre ces 2 groupes d'affection, rapprochement trouvé déjà par ailleurs sur les plans cliniques et pathogéniques.

Valeur séméiologique des électrophorèses sériques envisagées seules :

1° GÉNÉRALITÉS :

La réalisation simultanée des électrophorèses sériques et urinaires est habituellement rarement pratiquée de manière systématique. Pourtant elle donne des renseignements complémentaires que l'une ou l'autre ne peut apporter seule. En dehors des renseignements purement qualitatifs que l'on peut retirer de la comparaison des 2 bandes, et qui seront souvent précieux pour le diagnostic et quelquefois pour le pronostic, une épreuve nouvelle peut être faite à partir des 2 électrophorèses sériques et urinaires si on connaît la diurèse : la mesure des clearances des différentes fractions protéiques. Cette manière d'apprécier l'élimination urinaire des protéines n'est nullement classique ; c'est la transposition au domaine protidique des mesures des clearances des produits endogènes de l'organisme comme la créatinine. Du fait que l'on aborde problème quantitatif des précautions particulières devront être prises pour que les résultats ne soient pas erronés, elles ne s'appliquent qu'aux protides globales après coloration au bleu de bromophénol ou à l'amido Schwartz et après décomposition en courbes de Gauss. Les manipulations pour la pratique de l'électrophorèse doivent être minutieuses et standardisées, afin que sur la bande de papier les fractions soient le plus régulier possible et sans effet de bord ; dans ces conditions on peut comparer les résultats dans le temps. Le calcul proprement dit est très simple ; le mécanisme a été expliqué dans le rappel physiologique et dans le paragraphe intitulé : « expression des résultats » du chapitre V.

2° COMPARAISON QUALITATIVE DES ÉLECTROPHORÈSES SÉRIQUES ET URINAIRES :

L'étude séparée de chacune de ces électrophorèses dans les différents groupes d'affection rénale a été faite précédemment. De leur comparaison il semble que l'on peut tirer les conclusions suivantes :

A. — Dans tous les cas la teneur urinaire de la sérum albumine et de l'alpha-1 globuline est supérieure à la teneur sérique en % comme on le voit en se référant aux graphiques de comparaison des pourcentages des différentes fractions dans le sérum et l'urine. Cet écart est très net dans les néphroses, surtout pour les alpha-1 globulines. Dans toutes les autres affections, la courbe de la sérum albumine reste toujours au dessus de celle correspondante du sérum mais en tendant à s'en rapprocher dans les néphrites chroniques avec insuffisance rénale et dans les albuminuries simples ; l'alpha-1 globulines urinaire se rapproche le plus de la courbe sérique mais en restant toutefois encore au dessus.

B. — Toutes les autres fractions sont trouvées dans l'urine à un pourcentage supérieur à celui du sérum mais avec des modalités variables ; toutefois un fait est très marqué : la valeur constante des alpha-2 globulines urinaires qui se maintiennent dans des limites très étroites quelle que soit l'affection en cause.

— dans les néphroses lipéïdiques : un écart massif existe entre les 2 teneurs des alpha-2 globulines ; par contre la fraction bêta urinaire est à peu près au même pourcentage que la fraction correspondante sérique. La gamma globuline présente une diminution très marquée dans le sérum. Tout ceci contribue dans les néphroses lipéïdiques à donner au premier abord l'impression d'électrophorèse complémentaire, toutes les fractions manquant dans l'une se retrouvant dans l'autre. Mais ce n'est qu'une approximation car on ne tient pas compte de la valeur absolue de chaque fraction.

— néphrite hydropigène et syndrome néphrotique : la comparaison des 2 électrophorèses paraît avoir le plus d'utilité dans ces cas.

L'électrophorèse sérique n'est souvent pas caractéristique de la néphrose, la sérum albumine et l'alpha-1 globuline étant relativement peu abaissées et les alpha-2 globulines étant seules augmentées. L'élimination élevée de la sérum albumine et de l'alpha-1 globuline contribuera à former le « trou » des alpha-2 globulines qui aidera au diagnostic.

— néphrite aiguë : les constatations sont analogues pour la plupart des fractions. Le pourcentage des alpha-2 globulines

urinaires est encore nettement inférieur à celui du sérum mais à un degré bien moindre que dans les néphroses. Les bêta globulines urinaires ont presque toujours été trouvées supérieures à celles du sérum ; les gamma globulines urinaires ont une augmentation parallèle aux gamma globulines sériques mais à un degré moindre.

— néphrite albumineuse simple et avec insuffisance rénale :

On est frappé par la ressemblance des courbes de teneur urinaire des différentes fractions, d'une part entre elles et, d'autre part, avec la courbe du sérum. Sérum albumine et alpha-1 globuline sont à un taux légèrement supérieur dans l'urine ; les alpha-2 globulines quoique encore inférieures, sont très près du pourcentage sérique et les teneurs des bêta globulines sont pratiquement identiques. Seule une différence de degré sépare albuminurie simple et albuminurie avec insuffisance rénale, au point de vue électrophorétique. Cette dernière reflète le plus l'image sérique tandis que l'albuminurie simple renferme surtout de la sérum albumine. En fait, ce ne sont que des nuances. Par contre, on est frappé par la diminution des gamma globulines dans l'urine, même dans la néphrite chronique avec insuffisance rénale où les différences des gamma globulines sériques et urinaires sont très nettes.

C. — Enfin, comme il a été dit plus haut, seule l'électrophorèse urinaire peut déceler les formes de myélome à sérum normal.

3° LES CLEARANCES DES FRACTIONS PROTÉIQUES :

A. — Généralités :

Nous avons défini, dans les chapitres précédents, ce que nous entendions par clearance des fractions protéiques. Nous allons voir apparaître des différences fondamentales entre les différents groupes d'affections rénales là où les électrophorèses seules ne montraient que des ressemblances ou de faibles différences.

Pour l'appréciation des clearances il faut tenir compte de 2 valeurs, la valeur absolue de la clearance, qui augmente avec la teneur urinaire en albumine, et les valeurs respectives des

différentes fractions entre elles. Pour cette dernière, nous avons considéré la clearance de la sérum albumine comme étant égale à l'unité et nous lui avons ramené celle des différentes fractions.

Les clearances du groupe sérum albumine alpha-1 globuline sont toujours les plus élevées. C'est lui qui passe le mieux dans toutes les néphropathies. En prenant la clearance de la sérum albumine égale à 1 nous constatons que la clearance de l'alpha-1 globuline est très proche de celle de la sérum albumine. Ceci est encore une preuve du lien étroit existant entre ces deux fractions.

Par contre, les clearances des autres globulines sont plus basses.

B. — *Résultats des clearances dans les différentes affections rénales :*

— *Néphrose lipoïdique :*

En valeur absolue, du fait des taux importants de l'albuminurie, les clearances atteignent des chiffres élevés traduisant une perméabilité importante.

Le « trou » des alpha-2 globulines est ici particulièrement net et la valeur aussi bien absolue que relative de leur clearance est très différente des autres affections. Ceci n'apparaît pas nettement si on ne tient compte que de l'électrophorèse urinaire où nous avons vu que le pourcentage urinaire était remarquablement constant autour de 11 % et où l'impression de diminution des alpha-2 globulines urinaires était purement subjective.

Les clearances des bêta globulines sont relativement faibles par rapport aux autres affections ; ceci est particulièrement frappant en se ramenant à la clearance de la sérum albumine.

Il en est de même avec les gamma globulines.

— *Néphrite chronique hydropigène :* Il semble que les clearances soient particulièrement utiles dans les cas de diagnostic des néphrites hydropigènes et des syndromes néphrotiques. Dans nos 3 cas de néphrite hydropigène, dont un était très typique, les électrophorèses sériques n'étaient pas caractéristiques d'un syndrome néphrotique comme nous l'avons vu plus haut ; les électrophorèses urinaires étaient plus typiques mais avec une atténuation des différents caractères. En calculant les

clearances les chiffres trouvés sont ceux rencontrés dans la néphrose. Sur le plan pathogénique ceci est en faveur du rapprochement de la néphrose lipéidique avec la néphrite chronique hydropigène.

— *Néphrite chronique avec insuffisance rénale :*

Les clearances en valeur absolue sont basses ; mais en ramenant les différentes clearances à celle de la sérum albumine, on note un fait frappant : la tendance à l'égalisation des clearances. Les chiffres trouvés pour les fractions alpha-1, alpha-2 et bêta globuline, sont proches les uns des autres et plus près de 1 que dans les autres affections où les écarts sont très nets. Ceci apparaissait déjà sur les moyennes des courbes où les courbes urinaires et sériques des différentes fractions tendaient à se juxtaposer. En tout cas, cette égalisation des clearances traduit bien l'état scléreux du rein qui tend à fonctionner comme un filtre non sélectif.

— *Néphrite albuminurique simple :*

Les clearances sont également basses en valeur absolue mais on peut relever des caractères propres à ce groupe d'affection. Il n'y a aucune tendance à l'égalisation des clearances comme dans le cas précédent. En se rapportant à la clearance de la sérum albumine, celle des alpha-1 globuline a été trouvée un peu supérieure ; celle des alpha-2 globulines marque un fléchissement qui n'atteint pas les valeurs de la néphrose ; les gamma globulines ont encore une clearance moyenne.

De toute manière, des différences importantes apparaissent par la méthode des clearances entre néphrite avec insuffisance rénale et néphrite albuminurique simple ; ces différences ne peuvent absolument pas être décelées par les électrophorèses seules qui, comme nous l'avons vu, ne présentent pas de caractéristique suffisante pour permettre de porter un diagnostic sur leur simple vue. Les clearances apparaissent ici comme la mesure fine qui peut compléter et préciser un diagnostic que l'électrophorèse seule ne peut établir complètement.

— *Néphrite aiguë :*

En valeur absolue les clearances sont souvent basses comme précédemment ; par contre, si on les compare à celles de la sérum albumine, un tableau nouveau apparaît tendant à se

rapprocher de celui des néphroses. La clearance de l'alpha-2 globuline est de nouveau très basse, du même ordre de grandeur que dans les néphroses ; les clearances des bêta et gamma globulines sont un peu plus élevées mais beaucoup plus près des valeurs trouvées dans les néphroses que de celles trouvées dans les autres affections rénales dont les chiffres correspondants sont nettement supérieurs. Deux remarques peuvent être faites : malgré l'augmentation des gamma globulines sériques la clearance ne croît pas en proportion ; néphrite aiguë et néphrose sembleraient être 2 affections évolutives analogues se traduisant par des clearances semblables bien qu'avec un tableau clinique différent.

— *Néphrite hypertensive sans insuffisance rénale* :

Les clearances trouvées sont très semblables à celles de la néphrite albuminurique simple, dont la néphrite hypertensive ne serait peut-être qu'un cas particulier.

— *Amylose* :

Les clearances de notre cas unique sont celles d'une néphrose lipoidique dont les anomalies auraient été exagérées.

4° COMPARAISON DE L'IMPORTANCE DES CLEARANCES ET DES ÉLECTROPHORÈSES AU COURS DE L'ÉVOLUTION DES AFFECTIONS RÉNALES :

Comme nous l'avons dit plus haut, nous avons répété les électrophorèses au cours de l'évolution des affections rénales ; connaissant les teneurs des protéines sériques et urinaires et la diurèse des 24 heures, nous avons calculé chaque fois les clearances correspondantes de chaque fraction. De ces 2 groupes d'examen les résultats suivants semblent se dégager. Les pourcentages des différentes fractions ne varient que lentement au cours de l'évolution et les chiffres trouvés sont proches les uns des autres. Ceci n'intéresse que les teneurs protéiques ramenées à 100, car, en valeur absolue, on a de grosses différences par suite des variations des taux de protéines sériques et urinaires au cours des évolutions de la maladie. Autrement dit, les proportions respectives des différentes fractions semblent garder longtemps les mêmes valeurs bien que les chiffres de la protéinémie

ou de la protéinurie varient. On aura ainsi un retentissement sur les clearances où seules les valeurs absolues de chaque fraction interviennent dans leur établissement. Ceci peut expliquer la dissociation des résultats de l'électrophorèse et des clearances, celle-ci enregistrant immédiatement les moindres variations des taux des protéines urinaires et sériques. Nous avons rencontré de nombreux cas de ce genre ; pour un de nos malades examinés une première fois au cours d'une poussée évolutive, puis une deuxième fois un mois et demi plus tard en phase de rémission, nous avons trouvé les résultats suivants :

	Electrophorèses				Clearances	
	Sérum		Urines		Poussée	Rémission
	Poussée	Rémission	Poussée	Rémission		
Alb.	27	24,6	36,7	35	0,661	0,100
Alpha-1 ..	15	13,5	20,5	19,4	0,664	0,102
Alpha-2 ..	23,3	16,1	9,7	7,8	0,202	0,034
Bêta	10,1	20	19,4	21,2	0,935	0,075
Gamma ..	24,5	25,8	13,7	16,6	0,272	0,045

Ainsi, grâce aux clearances nous faisons entrer en ligne un nouveau facteur important : le taux d'albumine urinaire, dont on ne tient pas compte des variations en pratiquant les électrophorèses seules. Les clearances apparaissent ainsi comme un examen beaucoup plus complet tenant compte à la fois du volume urinaire et de la valeur absolue des différentes fractions plasmatiques et urinaires. Elles apparaissent bien comme un examen biologique fin qui renseigne sur l'état du rein.

CHAPITRE VII

ESSAI D'INTERPRETATION PATHOGENIQUE

Un essai d'interprétation pathogénique peut-il être tenté à partir de l'élimination des différentes fractions urinaires ? Il est très difficile de répondre ; tout au long de ce travail, nous avons constaté un certain nombre de faits que nous avons rapportés à mesure ; nous allons les réunir dans ce chapitre et essayer de tirer des conclusions.

1° Il semble actuellement prouvé que les protéines passant dans l'urine soient les mêmes que celles du plasma sanguin. Les protéines viennent directement du sang et ne sont pas secrétées par le rein. Il s'agit d'un passage à travers les parois du tube urinaire. Ces résultats sont valables aussi bien pour les néphrites proprement dites que pour les néphroses où les lésions glomérulaires prédominent également, mais en présentant un aspect histologique particulier qui les a fait longtemps méconnaître, comme nous l'avons déjà dit dans le rappel physiologique. En faveur de cette conception de la provenance sanguine des protéines urinaires, il faut citer essentiellement les travaux immunologiques qui ont pris dernièrement un nouvel essor avec les travaux d'immuno-électrophorèse de Grabard.

Toutefois, quelques restrictions doivent être apportées avec des travaux allemands récents [6]. Les auteurs allemands ont pratiqué des ultracentrifugations des protéines urinaires. Après mesure des vitesses de sédimentation, ils ont constaté que ce sont les molécules les plus petites de chaque fraction qui passent dans l'urine et non toutes les molécules.

II. — Pratiquement dans n'importe quelle maladie rénale, toutes les fractions passent, mais à des taux différents. Ceci va

à l'encontre des idées anciennes qui voulaient qu'aux affections rénales bénignes correspondent une élimination de sérum albumine, l'apparition des globulines signant la gravité de l'atteinte du rein. Cette élimination variable avec l'affection signe probablement une perméabilité glomérulaire variable avec l'affection en cause.

III. — Protéines urinaires et sériques varient-elles en sens inverse, c'est-à-dire toute augmentation des unes s'accompagne-t-elle d'une diminution des autres ? Si on admet que, pour toutes les affections rénales le glomérule est le premier élément atteint et que la protéinurie est due à une exagération de la perméabilité, la néphrose devient un cas particulier des néphrites, caractérisé par une augmentation extrême de cette perméabilité glomérulaire. Dans ce cas apparaît nettement le balancement urine-sérum des protéines. Dans les autres maladies rénales où la perméabilité glomérulaire aux protéines est moindre, ce phénomène apparaît moins nettement. Toutefois, si on considère les moyennes des protéines totales du plasma, on s'aperçoit qu'elles sont toutes inférieures au taux normal des sujets bien portants. Le phénomène de balancement n'est pas alors généralisé à presque toutes les fractions comme dans la néphrose, mais seulement à certaines d'entre elles. Il semble donc que l'élimination urinaire des protéines soit un des facteurs agissant sur la teneur des protéines plasmatiques ; toute perturbation protéique du sang apparaît ainsi comme en partie due à la fuite urinaire des protéines.

IV. — Quelles sont les variations des clearances des différentes fractions rénales et quelles conséquences pathogéniques peut-on en déduire ? Nous ne reprendrons pas l'étude des variations des clearances que nous avons exposé plus haut. Quelques points seulement semblent plus importants.

a) Envisagées dans leur ensemble, les clearances varient avec l'état anatomique du rein ; nous avons vu que dans les cas de néphrose et de néphrite hydropigène, les valeurs des clearances augmentaient considérablement, mais que par contre, elles étaient beaucoup plus faibles dans les néphrites chroniques à un stade avancé. Le rôle de la sclérose et du nombre de voies de passage semblent intervenir de façon primordiale ;

dans les néphroses, la perméabilité glomérulaire est très grande car il n'y a pas de sclérose et le nombre de voies de passage est important ; dans les néphrites chroniques avancées, le glomérule reste fonctionnellement perméable, mais à un degré assez faible, car la sclérose est abondante avec de grosses voies de passage, mais peu nombreuses. Les preuves en sont les clearances très différentes pour chaque fraction dans la néphrose, tandis que dans la néphrite chronique avancée, les valeurs des différentes clearances sont proches les unes des autres. Autrement dit, tout se passe comme si dans les néphroses, les « trous » étaient petits, mais nombreux, d'où passage relativement facile des protéines avec possibilité de perméabilité sélective, et dans les néphrites chroniques à un stade avancé, les « trous » étaient gros mais peu nombreux par suite de la sclérose, d'où un passage facile, mais non sélectif.

b) La clearance des albumines est toujours la plus élevée. Actuellement, il ne semble pas que l'on puisse donner une explication ; tout au plus peut-on avancer quelques hypothèses. Tout d'abord, la sérum albumine étant la protéine la plus abondante du plasma, il paraît normal qu'on la retrouve en plus grande quantité dans l'urine. D'autre part, si on s'adresse à ses propriétés physiques, quelques données peuvent apporter des éclaircissements. Son poids moléculaire est bas autour de 70.000, environ le tiers de celui des globulines les plus petites ; sa forme est allongée et les dimensions ont été mesurées par radiogramme aux rayons X par Low et Esdall en 1952 et 1953. Il apparaît ainsi un faisceau de caractères qui, au premier abord paraissent favoriser le passage de la sérum albumine à travers les pores du glomérule.

c) La clearance de l'alpha-1 globuline a également une valeur voisine de celle de la sérum albumine ; les propriétés physico-chimiques semblables qui existent entre ces différentes protéines pourraient expliquer les valeurs des clearances proches les unes des autres.

d) Pour expliquer la valeur basse de la clearance des alpha-2 globulines dans un certain nombre d'affections, on est obligé de recourir à des hypothèses. En effet, la constitution des glucoprotéines est mal connue ; elles ne forment pas un groupe homo-

gène et sont actuellement partagées en plusieurs fractions assez mal définies pour certaines. Toutefois, depuis quelques années, les travaux de différents auteurs dont Grabard, Jayle, etc..., ont permis d'isoler et d'étudier un certain nombre de ces protéines.

La première hypothèse est celle d'un poids moléculaire anormal. Les poids moléculaires des fractions isolées oscillent entre 100.000 et 200.000, mais elles semblent faire partie de complexe ayant une masse beaucoup plus importante.

On peut penser également du fait de ce poids moléculaire élevé et de la très faible dimension des pores intercellulaires, que la forme des molécules peut jouer. En fait, les diagrammes de rayon X ont révélé une forme allongée.

La troisième hypothèse qui peut être envisagée est la fixation et la réabsorption par le tube après passage par le glomérule, d'où l'augmentation de la teneur plasmatique que l'on retrouve dans les syndromes néphrotiques. En fait, on ne connaît pas exactement les raisons qui motivent l'augmentation massive des alpha-2 globulines plasmatiques avec la faible teneur urinaire, syndrome biologique extrêmement caractéristique des néphroses et syndromes néphrotiques.

e) Pour ce qui est des clearances des bêta et gamma globulines, rien de notable ne semble devoir être retenu. En effet, leur valeur semble suivre la teneur plasmatique des fractions correspondantes. Toutefois, il est à noter que les bêta globulines, protéines non homogènes comme les alpha-2 globulines et avec un poids moléculaire très élevé allant de 300.000 à 1.000.000, semblent ne pas présenter au premier abord de difficulté particulière pour passer dans l'urine. Mais des restrictions peuvent être faites ; en effet, alors que dans le plasma les bêta globulines se colorent facilement par les colorants des graisses, dans les urines cette coloration est difficile à obtenir comme nous l'avons dit plus haut. A ce moment, nous avons émis différentes hypothèses ; peut-être que la fraction lipidique se sépare de la fraction protidique, celle-ci passant seule dans l'urine. On se rapprocherait alors de l'hypothèse des auteurs allemands qui voulaient que les protéines urinaires ne fussent qu'une partie des protéines plasmatiques.

CONCLUSIONS

1. — Les électrophorèses représentent un examen biologique intéressant dans les néphropathies aussi bien dans la pratique clinique que dans le domaine de la recherche, et cela d'autant plus que l'on pratiquera simultanément l'électrophorèse sérique et urinaire, que l'on décomposera les graphiques obtenus en courbe de Gauss et que l'on s'aidera de la planimétrie pour comparer les pourcentages de chaque fraction. La décomposition des graphiques par le procédé d'abaissement des perpendiculaires est insuffisant car il est entaché d'imprécision dès que les graphiques obtenus ne sont pas parfaits.

2. — L'électrophorèse sérique seule est insuffisante ; elle ne donne qu'une image partielle de l'affection, provoquant l'atteinte rénale. Elle risque de laisser ignorer le diagnostic dans les cas d'anomalies protidiques urinaires isolées, sans manifestation sérique. De plus, elle empêche tout calcul des clearances des fractions protidiques. Le mot clearance n'est pas pris dans son sens étymologique, mais dans le sens habituel d'élimination, cette excrétion protidique n'étant que l'exagération pathologique d'une protéinurie physiologique.

3. — Tous les différents modes de coloration ne sont pas également nécessaires. Les protidogrammes sériques et urinaires sont essentiels ; les lipidogrammes sériques peuvent être un examen d'appoint dans les cas de néphrose. Les glucidogrammes paraissent inutiles, les variations de ces derniers suivant sensiblement celles des protidogrammes.

4. — Les constatations suivantes peuvent être tirées des électrophorèses comparées sérum/urine :

a) Présence constante dans les protéinuries de toutes les fractions protéiques sériques.

b) Hypergamma globulinémie sérique avec augmentation de la fraction urinaire dans les néphrites aiguës en évolution.

c) Image sérique caractéristique du syndrome néphrotique avec, surtout, en regardant la bande d'électrophorèse urinaire, « l'image du trou » des α_2 globulines. En fait, cela répond non pas à une diminution dans l'urine de la fraction α_2 , dont le pourcentage urinaire a été trouvé identique dans toutes les affections rénales, mais à une augmentation des fractions voisines qui écrasent alors la fraction α_2 . Ces constatations sont communes à tous les syndromes néphrotiques, néphrite hydropigène comprise, mais parfois elles sont plus nettes dans la néphrose que dans la néphrite hydropigène.

d) Image électrophorétique sérique sensiblement identique dans la néphrite albuminurique simple et dans les néphrites évolutives avec insuffisance rénale ; dans l'électrophorèse urinaire de la néphrite simple, peut-être trouve-t-on une prédominance de la sérum albumine.

e) Possibilité de la découverte d'une protéine anormale pouvant aller jusqu'à la fraction urinaire unique avec souvent retentissement sérique minime ou nul. Ces cas paraissent pouvoir être rattachés aux manifestations rénales du myélome.

5. — La pratique simultanée de l'électrophorèse urinaire et sérique permet le calcul des clearances des fractions protidiques avec apparition de certains détails que l'électrophorèse, seule, ne peut donner :

a) dans tous les cas, prédominances de la clearance de la sérum albumine.

b) valeur variable de la clearance des α_2 globulines dans les différentes affections rénales avec un chiffre particulièrement bas pour la néphrose lipodique ; cette variabilité des clearances s'oppose à la fixité des pourcentages obtenus dans les électrophorèses urinaires.

c) divergences des clearances des différentes fractions protéiques dans la néphrite albuminurique simple et dans la né-

phrite avec insuffisance rénale, divergences que n'indique pas la simple électrophorèse.

d) tendance à l'égalisation des chiffres des clearances des différentes fractions protéiques lorsqu'apparaît l'insuffisance rénale.

BIBLIOGRAPHIE.

1. COVAETS et CORDIER. — *Bull. Ac. Roy. Med. Belg.*, 1928, 8, 510.
2. ADDIS. — *Glomerular Nephrites*, New-York, 1948.
3. RIGAS et HELLER. — *J. Clin. Invest.*, 1951, 30, 853.
4. ELEANOR MC GARRY, H. SEHON et BRAM ROSE. — *J. Clin. of Invest.* Juin 1955.
5. BOURDILLON, JAQUES. — Osmotic pressure study of protein fraction in normal and nephrotic subjects. *J. Exper. Medicine*, 69, 819-831, juin 1939.
6. JANKLE et SCHOLTAN. — *Zur Mechanismen der Proteinurie*, *Deutsches Archiv. für Klinisch. Mediz.* 200, 821-836, Décembre 1953.
7. ELLIOT, OSSERMAN (F.) et DOLORES P. LAWLON. — *Ann. S. of Med.* Mars 1955.
8. BENHAMOU. — *Algérie Médicale*, 1953, Vol. 57, p. 685.
9. FOUILLOUZE. — *Chimie Qualitative et Quantitative appliquée*, Imprimerie de Trévoux (J. Pâtissier).
10. MACHEBŒUF et REBEYROTTE. — *Revue d'Hémo.*, 1952, 7, 400.
11. ROSENBERG. — *J. Clin. of Invest.*, 1952, 31, 658.
12. RAYMOND et BENHAMOU. — *A.B.C.*, janv.-fév. 1953.
13. FASOLI. — *Lancet*, 1, 106, 1952.
14. WIEDMANN. — *Helv. Chim. Acta*, 1947, 30, p. 892.
15. DREVON. — *Lyon Pharmaceutique*, 1953, N° 7.
16. TISELIUS. — *Bioch. Journ.*, 1937, 31, 313.
— *Symposium sur les Protéines*, Masson Ed., 1947.
17. DURRUM (E.-L.). — *U.S. Army Med. Depart., Field Research Labo. Report Project*, 6, 64, 12, 06, Mars 15, 1949. *J. Am. Chem. Soc.* 1950, p. 2.943.
18. CREMER (H.-D.) et TISELIUS (A.). — *Bioch. J.*, 1950, 320, 273.
19. GRASSMANN (W.) et HANNIG. — *Naturwiss.*, 1950, 37, 397.
20. TURBER (F.) et ENENKEL. — *Naturwiss.*, 1950, 37, 93.
21. GRASSMANN (W.) et HANNIG. — *Z. Physiol. Chem.*, 1952, 290, 1.
22. ESSER (H.), HEINZLER (F.), KAZMEIER (F.), SCHOLTAN (W.). — *Munich Med. Woch.*, 1951, 35, 89.
23. KUNKELL et TISELIUS. — *J. Gen. Physiol.*, 1951, 35, 89.
24. BISERTE, CHARBONNIER, GUÉRIN. — Séance du 5 juillet 1954, *Acad. des Sciences*.

26. TRAEGER, RUITTON, QUINCY. — Conférences de perfectionnement des Internes en Pharmacie des Hôpitaux de Lyon. *Séméiologie Rénale*, 1955. (Imprimerie Pâtissier à Trévoux).
27. ENSELME. — *Séméiologie Electrophorétique*, Edition Camugli, Lyon, 1955.
28. BLACKMANN, GOODWIN, BUELL (M.-V.). — *Bull. John's Hopkins*, 69, 397, 468, 1941.
29. SOULIER (J.-P.). — *Presse Médicale*, 14 janv. 1953, p. 49.
— *Congrès International de Biochimie*, 1952.
31. BENHAMOU et PUGLIESE. — *Bull. Ac. Nat. Med.*, 1950, 134, 788.
32. JAYLE, LAGRUE et BOUSSIER. — *P. M.*, 22 sept. 1954, p. 1.246.
33. LAGRUE. — *Th. Paris*, 1954. Aspect clinique et biologique de 60 cas de Néphroses.
35. *Semaine des Hôpitaux*, 22 oct. 1952; p. 3.619.
34. *Il Latante*, 24 sept. 1953, pp. 561-780.
36. RAYMOND, D'ESHOUGUES et PASQUET. — *Semaine des Hôpitaux*, 20 nov. 1954, p. 4.065.
37. PÉTAT (J.-M.). — *Journal de Médecine de Lyon*, 5 avril 1954, p. 327.
38. LONGSWORTH et MC INNES. — *J. of Exp. Med.*, janv. 1940, 77-82.
39. LUETSCHER. — *J. Clin. Investig.*, mai 1944, 365-371.
40. BLACKMANN et DAVIS. — *J. Clin. Investig.*, juillet 1943, 545-549.
41. ROUTH, KNAPP, KOBAYACHI. — *J. of Pediatrics*, déc. 1948, 688-697.
42. LENKS et BERGER. — *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, Nov. 1953, 366-369.
43. FANSWORTH et RUPPENTHAL. — *J. Lab. and Clin. Med.*, 38, p. 407-413.
44. STINCKLER, BURKE, MC KENZIE. — *Proc. of the Staff Meeting of the Med. Clin.*, oct. 1954, p. 555-561.
45. RATHER (L.-S.). — *Médecine*, 1952, 31, 357.
46. LAMBERT. — *Les Albuminuries*, Masson, 1954.
47. *The Anatomical Record*, Vol. 121, N° 4, avril 1955.
48. TEISSIER. — *Les Albuminuries (1921). Actualités Médicales.* Libr. Baillière et fils, Paris.
49. DUMOND (J.-J.). — *Th. de Pharmacie de Lyon*, juillet 1955.

TABLE DES MATIERES

<i>Chapitre Premier.</i> — Historique	11
<i>Chapitre II</i>	15
<i>Chapitre III.</i> — Rappel du mécanisme de la protéinurie..	17
<i>Chapitre IV.</i> — Techniques employées	25
<i>Chapitre V.</i> — Résultats obtenus	49
<i>Chapitre VI.</i> — Intérêt des électrophorèses urinaires et sériques et des clearances dans les différentes affec- tions rénales	71
<i>Chapitre VII.</i> — Essai d'interprétation pathogénique	103
Conclusions	107
Bibliographie	110

